

## 107. Über den Einfluss von 1,4-Naphtochinonderivaten mit Vitamin-K- oder Antivitamin-K-Charakter auf die Urease

von W. H. Schopfer und E. C. Grob.

(27. XII. 48.)

Die beiden in der Natur vorkommenden Vitamine  $K_1$  und  $K_2$  sind als Derivate des 1,4-Naphtochinons erkannt worden. Das Vitamin  $K_1$ , das *Karrer* und *Dam*<sup>1)</sup> erstmals aus Alfalfaheu isolierten, wurde als 2-Methyl-3-phytyl-1,4-naphtochinon identifiziert. *Doisy* und Mitarbeiter<sup>2)</sup> erhielten aus faulem Fischmehl das Vitamin  $K_2$ , seine Formel entspricht dem 2-Methyl-3-difarnesyl-1,4-naphtochinon. Seit der Entdeckung dieser beiden antihämorrhagischen Faktoren sind noch weitere Abkömmlinge des 1,4-Naphtochinons mit Vitamin-K-Wirkung entdeckt worden. Vor allem ist es *Fieser*, dem wir unter anderem auch die Synthese der Vitamine  $K_1$  und  $K_2$  verdanken, gelungen, eine Anzahl wirksamer Komponenten zu finden<sup>3)</sup>. Selbst der Grundkörper der K-Vitamine, das 2-Methyl-1,4-naphtochinon, hat sich als aktiv erwiesen<sup>4)</sup>; seine Wirksamkeit ist im Tierversuch sogar derjenigen des  $K_1$  und  $K_2$  überlegen.

Für die Vitamin-K-Aktivität scheint die in Stellung 2 befindliche Methylgruppe von besonderer Bedeutung zu sein. Eine geringfügige Änderung an dieser Stelle bewirkt Herabsetzung oder gar Aufhebung des Vitamincharakters. Die Verbindung 2-Chlor-1,4-naphtochinon, welche mit dem 2-Methyl-1,4-naphtochinon isomorph ist<sup>5)</sup>, hat sich indessen als ein Antivitamin K erwiesen<sup>6)</sup>. Ähnliche Verhältnisse finden wir beim Phtiocol (2-Methyl-3-oxy-1,4-naphtochinon), welches aus *Mycobact. tuberculosis* isoliert worden ist und für diesen Organismus als unentbehrlicher Wachstumsfaktor angesehen worden ist<sup>7)</sup>. Wie beim 2-Methyl-1,4-naphtochinon, so kann auch beim Phtiocol die Methyl-Gruppe durch Chlor oder durch eine Methoxygruppe ersetzt werden, wobei Verbindungen mit Antivitamincharakter entstehen<sup>8)</sup>.

<sup>1)</sup> *H. Dam, A. Geiger, J. Glavind, P. Karrer, W. Karrer, E. Rothschild* und *H. Salomon*, *Helv.* **22**, 310 (1939).

<sup>2)</sup> *R. W. McKee, S. B. Binkley, D. W. Corquodale, S. A. Thayer* und *E. A. Doisy*, *Am. Soc.* **61**, 1295 (1939).

<sup>3)</sup> *L. F. Fieser, M. Tishler* und *W. L. Sampson*, *J. Biol. Chem.* **137**, 659 (1941).

<sup>4)</sup> *Ansbacher* und *Fernholz*, *Am. Soc.* **61**, 1924 (1939).

<sup>5)</sup> *P. Meunier, C. Mentzer* und *Buu-Hoi*, *Soc. chim. biol.* **27**, 191 (1945).

<sup>6)</sup> *M. und Mme. Guérillot-Vinet*, *C. r.* **227**, 93 (1948); *W. H. Schopfer* und *Mlle. M. L. Boss*, *Arch. Sciences* **1**, 521 (1948).

<sup>7)</sup> *D. W. Woolley* und *J. R. Mc Carter*, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **45**, 357 (1940).

<sup>8)</sup> *P. Meunier, C. Mentzer* und *Buu-Hoi*, *Soc. chim. Biol.* **27**, 191 (1945).

Sodann gelingt es, durch Verdoppelung K-aktiver Molekeln Antivitamin K herzustellen, wie dies *Meunier* und *Mentzer* gezeigt haben. Wir erwähnen hier als Beispiel das Diphtiocol.

Wir haben schon angedeutet, dass Phthiocol für *Mycobact. tuberculosis* als Wachstumsfaktor betrachtet wird. Dieser Mikroorganismus entwickelt sich aber auch mit 2-Methyl-1,4-naphtochinon. Dies ist nicht der einzige Fall, wo Vitamin K als Wachstumsfaktor wirkt; auch *E. Coli*<sup>1)</sup>, *Aspergillus niger*<sup>2)</sup> und andere benötigen es zu ihrem Wachstum. Interessant ist die Feststellung, dass die beschriebenen Antivitamin K nicht nur im tierischen Organismus, sondern im allgemeinen auch bei Mikroorganismen wirksam sind.

Schon lange bevor man Kenntnisse über die Vitamine K und Antivitamin K besass, wurde festgestellt, dass gewisse Chinonderivate stark antibakterielle Wirkung ausüben. 1913 beobachtete *Cooper*<sup>3)</sup> die antibiotische Wirkung des p-Benzochinons. In neuerer Zeit sind viele Benzo- sowie Naphtochinonderivate gefunden worden, die von lebenden Organismen gebildet werden und eine stark antibakterielle Wirkung ausüben. Es seien hier nur Fumigatin (3-Oxy-4-methoxy-toluchinon), welches aus Kulturlösungen verschiedener *Aspergillus*arten isoliert werden konnte, ferner das Naphtazin (5,8-Dioxy-1,4-naphtochinon) und Javanicin (aus *Fusarium javanicum*), ein Derivat des Naphtazins<sup>4)</sup>, welches sich besonders durch seine Wirkung auf Tuberkelbazillen auszeichnet, erwähnt. Eine ausführliche Zusammenfassung der in der Natur gebildeten Chinonderivate ist vor kurzem durch *O. Hoffmann-Ostenhof*<sup>5)</sup> gegeben worden. Eine antibiotische Wirkung synthetischer Vitamin-K-Derivate wurde von verschiedenen Forschern festgestellt. So hat *W. H. Schopfer* 44 Mikroorganismen auf ihr Verhalten gegen 2-Methyl-1,4-naphtochinon hin untersucht<sup>6)</sup>.

Es schien nicht ausgeschlossen, dass die Ursache der antibiotischen Wirkung der Chinon- resp. Naphtochinonderivate in einer Blockierung gewisser Fermentsysteme zu suchen sei. Um diese Frage bemühen sich insbesondere *O. Hoffmann-Ostenhof* und seine Mitarbeiter. Von seinen Arbeiten seien hier erwähnt: Die Hemmwirkung verschiedener Chinone auf die Urease<sup>7)</sup>, auf die Katalase<sup>8)</sup> und auf das Papain<sup>9)</sup>. *Hoffmann-Ostenhof* fand, dass gewisse Chinone eine

1) *Schmidt* und *Busilk*, *Klin. Wschr.* **1**, 411 (1942).

2) *Mlle Vinet*, *C. r. soc. Biol.* **139**, 155 (1945).

3) *E. A. Cooper*, *Biochem. J.* **7**, 186 (1913).

4) *H. R. W. Arnstein*, *A. H. Cook* und *M. S. Lacey*, *Nature* **157**, 333 (1946).

5) *O. Hoffmann-Ostenhof*, *Exper.* **3**, 137 und 176 (1947).

6) *W. H. Schopfer* und *Mlle M. L. Boss*, *Arch. Sciences* **1**, 521 (1948).

7) *O. Hoffmann-Ostenhof* und *W. H. Lee*, *M.* **76**, 180 (1946).

8) *O. Hoffmann-Ostenhof* und *E. Biach*, *M.* **76**, 319 (1946).

9) *O. Hoffmann-Ostenhof* und *E. Biach*, *Exper.* **2**, 405 (1946).

stark antibiotische Wirkung ausüben, während sie eine relativ schwache Wirkung auf die Enzyme haben können. Aus diesem Grunde glaubt er keinen direkten Zusammenhang zwischen bakteriostatischer und enzym-hemmender Wirkung der Chinone zu finden. Wir glauben, dass ein direkter Vergleich zwischen Wachstumshemmung und Enzymhemmung nicht zulässig ist. Es ist zu berücksichtigen, dass die Inhibitoren bei der Einwirkung auf lebende Organismen erst in die Zelle eindringen müssen, um zu den Fermentsystemen zu gelangen, während bei den Fermentversuchen die wirksamen Komponenten mit den letzteren direkt in Berührung stehen. Unterschiede in der Wirksamkeit der Chinone zwischen lebendem Organismus und Ferment könnten wohl auf Grund verschiedenen Permeierungsvermögens gefunden werden.

Diese Arbeit ist im Zusammenhang mit mikrobiologischen Untersuchungen, die zum Ziele haben, den Einfluss der verschiedenen K-Vitamine und Antivitamine, sowie auch die Beziehung zwischen Vitamin und Antivitamin abzuklären, ausgeführt worden. Es sollte an einer Reihe von Fermenten geprüft werden, inwieweit die sich beim lebenden Organismus abspielenden Reaktionen auch bei den Fermenten eine Rolle spielen.

Als erstes Ferment wählten wir die Urease, von der bekannt ist, dass ihre Aktivität durch verschiedene Naphtochinone beeinflusst wird.

### Die Einwirkung von Naphtochinonen mit Vitamin-K- und Antivitamin-K-Wirkung auf die Urease<sup>1)</sup>.

#### Experimentelles.

Alle unsere Untersuchungen sind mit einem nicht sehr hoch gereinigten Ureasepräparat durchgeführt worden. Trotzdem glauben wir, dass unseren Ergebnissen eine gewisse praktische Bedeutung beigemessen werden darf, da ja auch die Natur nicht mit reinen Enzymen arbeitet.

Für alle Versuche verwendeten wir eine frischbereitete, klare 0,1-proz. Ureaselösung. Die Prüfung der Ureaseaktivität erfolgte durch Zugabe von 2 cm<sup>3</sup> Ureaselösung zu 5 cm<sup>3</sup> 1-proz. Harnstofflösung. Wir liessen die Urease jeweils zwei Stunden bei 37° einwirken. Das ungepufferte Reaktionsgemisch wurde zu Beginn auf p<sub>H</sub> 7 eingestellt. Wir sind uns bewusst, dass die durch die Ammoniakbildung bedingte p<sub>H</sub>-Änderung die Aktivität der Urease herabsetzt, doch da wir nur Vergleichsmessungen durchführen, spielt dieser Umstand für uns keine sehr grosse Rolle. Das zur Prüfung vorgesehene Naphtochinon wird in wässriger Lösung (100 γ/cm<sup>3</sup>) vor der Ureasezugabe zur Harnstofflösung gegeben. Die in der vorliegenden Arbeit erwähnten Versuche sind mit max. 480 γ Naphtochinon ausgeführt worden, was 4,8 cm<sup>3</sup> wässriger Lösung entspricht. Wo weniger als 4,8 cm<sup>3</sup> zugesetzt wurden, wurde mit Wasser auf dieses Volumen ergänzt, so dass das Gesamtvolumen der Reaktionslösung stets 11,8 cm<sup>3</sup> beträgt. Die in den Versuchen angegebenen Naphtochinonmengen beziehen sich immer auf dieses Volumen. Das gebildete Ammoniak, Ausdruck der Fermentaktivität, titrieren wir mit n/40 HCl und mit Methylorange als Indikator. Die Ammoniakmenge der Kontrollversuche setzen wir gleich 100% Aktivität. Alle übrigen

<sup>1)</sup> W. H. Schopfer und E. C. Grob, Arch. Sciences 1, 524 (1948).

Werte beziehen sich auf diese Grösse. Kontrollversuche wurden in jeder Versuchsreihe durchgeführt. Die Aktivitäten unserer Versuche stellen Mittelwerte aus drei Parallelversuchen dar.

Es sind folgende Substanzen auf ihre Wirksamkeit geprüft worden: 1,4-Naphtochinon, 2-Chlor-1,4-naphtochinon, 2-Methyl-1,4-naphtochinon, 2,3-Dimethyl-1,4-naphtochinon, 2,5-Dimethyl-1,4-naphtochinon, 2,6-Dimethyl-1,4-naphtochinon, 2-Äthyl-1,4-naphtochinon, Phthiocol, Diphtiocol, Juglon, 2-Methyl-1,4-naphtohydrochinon-diphosphorsäureester (Natriumsalz), 2-Methyl-1,4-disuccinyl-naphtohydrochinon, 2,3-Dimethyl-1,4-diacetyl-naphtohydrochinon, Dicumarol und Phenylindandion. Das Dicumarol und Phenylindandion gehören nicht in die Reihe der Naphtochinone, besitzen aber eine ähnliche Struktur und haben sich als Antivitamine erwiesen.

#### Die Hemmung der Ureaseaktivität durch Naphtochinonderivate.

Von den 15 aufgeführten und geprüften Verbindungen zeichneten sich nur drei durch eine bemerkenswerte Hemmwirkung aus, nämlich: das 1,4-Naphtochinon, das 2-Chlor-1,4-naphtochinon und das Juglon. Eine deutliche, wenn auch sehr viel schwächere Wirkung als die drei eben erwähnten Substanzen zeigte das 2,6-Dimethyl-1,4-naphtochinon. Die Wirkungsintensität dieser Komponenten geht aus Fig. 1 hervor. In scheinbarem Widerspruch zu unseren Ergebnissen stehen diejenigen von *W. M. Grant* und *V. E. Kinsey*<sup>1)</sup>, welche gefunden haben, dass die Urease durch  $5 \cdot 10^{-4}$  Mol 2-Methyl-1,4-naphtochinon zu 44% gehemmt wird. Die angewandte Menge Methyl-naphtochinon ist aber in diesen Versuchen unvergleichlich viel grösser als bei uns. Auch wir konnten mit 1000  $\gamma$  2-Methyl-1,4-naphtochinon eine Hemmung von 12% beobachten, diese Hemmung ist aber im Verhältnis zu den von 2-Chlor-1,4-naphtochinon, 1,4-Naphtochinon und Juglon bewirkten Hemmungen ausserordentlich viel kleiner, so dass wir sie für unsere Versuche vernachlässigen können.

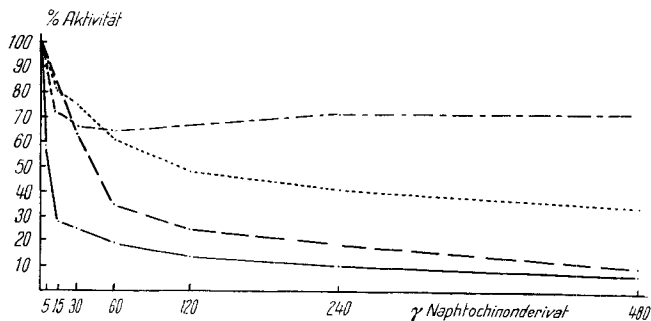


Fig. 1.

#### Hemmung der Urease durch Naphtochinonderivate.

- - - - - 2,6-Dimethyl-1,4-naphtochinon      — — — — — 1,4-Naphtochinon  
 ········ Juglon                                      ·———· 2-Chlor-1,4-naphtochinon

In der Tabelle 1 geben wir diejenigen Mengen von 2-Chlor-1,4-naphtochinon, 1,4-Naphtochinon und Juglon wieder, welche zu einer 50-proz. Hemmung der Urease führen.

In dieser Tabelle bedeutet  $E_0$  das Normalpotential, welches in alkoholischer Lösung gegen das entsprechende Hydrochinon gemessen worden ist (*Fieser & Fieser*, Organic Chemistry, p. 728-29).

<sup>1)</sup> *W. M. Grant* und *V. E. Kinsey*, J. Biol. Chem. **165**, 485 (1946).

**Tabelle 1.**

Menge von 2-Chlor-1,4-naphtochinon, 1,4-Naphtochinon und Juglon, die notwendig ist, um die Ureaseaktivität auf 50% zu reduzieren.

	in $\gamma$	in m-Mol	E <sub>0</sub>
2-Chlor-1,4-naphtochinon . . .	10	$5,2 \cdot 10^{-5}$	508 mV
1,4-Naphtochinon . . . . .	45	$2,8 \cdot 10^{-4}$	484 mV
Juglon . . . . .	120	$6,9 \cdot 10^{-4}$	447 mV

Auch bei den 44 von *W. H. Schopfer*<sup>1)</sup> untersuchten Mikroorganismen, sowie bei *Fusarium solani*<sup>2)</sup>, finden wir das 2-Chlor-1,4-naphtochinon als stärksten Inhibitor. Etwas weniger wirksam ist das 1,4-Naphtochinon. In noch höheren Dosen übt auch das Vitamin K<sub>3</sub> (2-Methyl-1,4-naphtochinon) eine wachstumshemmende Wirkung aus. Die Tabelle 2 zeigt die Mengen von Vitamin K<sub>3</sub>, 2-Chlor-1,4-naphtochinon, 1,4-Naphtochinon und 2,6-Dimethyl-1,4-naphtochinon, die notwendig sind, um eine Hemmung von 50% zu erzeugen. Die angegebenen  $\gamma$ -Werte beziehen sich auf 1 cm<sup>3</sup> Nährlösung.

**Tabelle 2.**

Eine Wachstumshemmung von 50% wird mit folgenden Mengen der aufgeführten Naphtochinone erhalten.

(nach unveröffentlichten Versuchen von *W. H. Schopfer*).

Mikroorganismus	2-Methyl-1,4-naphtochinon	2-Chlor-1,4-naphtochinon	1,4-Naphtochinon	2,3-Dimethyl-naphtochinon
<i>Lactobac. ferm.</i> 36 . . . . .	keine Wirkung mit 40 $\gamma$	11,9 $\gamma$	14,3 $\gamma$	—
<i>Ustilago violacea</i> . . . . .	1,74 $\gamma$	0,07 $\gamma$	0,38 $\gamma$	5,4 $\gamma$
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> . . . . .	1,32 $\gamma$	0,36 $\gamma$	—	—
<i>Candida Guillermondii</i> var. nitratophila . . . . .	1,68 $\gamma$	0,05 $\gamma$	0,116 $\gamma$	—
<i>Neurospora crassa</i> PAB <sup>-</sup> . . . . .	3,4 $\gamma$	0,25 $\gamma$	—	—
<i>Rhodotorula rubra</i> . . . . .	7,52 $\gamma$	1,22 $\gamma$	2,52 $\gamma$	—
<i>Mucor Ramannianus</i> . . . . .	keine Wirkung mit 10 $\gamma$	0,36 $\gamma$	—	—
<i>Eremothecium ashbyii</i> (gelb) . . . . .	1,04 $\gamma$	0,06 $\gamma$	—	—
<i>Phycomyces blakesleeianus</i> . . . . .	1,44 $\gamma$	0,11 $\gamma$	1,32 $\gamma$	—

### Deutungsversuche des Hemmungsmechanismus.

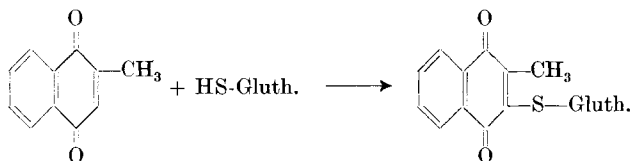
Die Urease ist ein typisches „Sulphydryl-Enzym“ und besitzt als solches freie SH-Gruppen, die für die Fermenttätigkeit unbedingt notwendig sind. Nach *Bersin* haben diese einen aktivierenden Einfluss auf die Amino-Wirkgruppen. Eine chemische Veränderung der ersteren müsste demnach zur Aufhebung der Fermenttätigkeit führen.

<sup>1)</sup> *W. H. Schopfer* und *Mlle M. L. Boss*, *Arch. Sciences* **1**, 521 (1948).

<sup>2)</sup> *M. und Mme. A. Guérillot-Vinet*, *C. r.* **227**, 93 (1948).

Wir wissen, dass sich die Sulphydrylverbindungen leicht zu Disulfiden oxydieren lassen. Ferner sind sie auch zur Mercaptidbildung befähigt. Daraus folgern wir, dass sowohl oxydierende als auch mercaptidbildende Komponenten die Fermenttätigkeit zu hemmen imstande sind.

Von den uns interessierenden Naphtochinonen weiss man, dass sie als Oxydationsmittel Disulfide bilden können. Sofern die Stellung 2 oder 3 des Naphtochinonringes noch unbesetzt ist, kann ferner zwischen ihnen und einer SH-Komponenten eine Verbindungsbildung eintreten. So verläuft z. B. die Reaktion zwischen 2-Methyl-1,4-naphtochinon und Glutathion nach der Gleichung:



*J. E. Page* und *J. G. Waller*<sup>1)</sup> haben auf Grund polarographischer Untersuchungen diese Reaktion am Beispiel des Cysteins bestätigen können. Wie sich aus dem Verhalten der Ultravioletspektren ergeben hat, tritt die vorerwähnte Reaktion auch mit den SH-Gruppen der Proteine ein.

Beruhet die Hemmung der Urease nun auf einer Oxydationswirkung der Naphtochinone oder auf einer Mercaptidbildung? Wie aus Tabelle 1 zu entnehmen war, besteht in unseren Versuchen Übereinstimmung zwischen der Grösse des Redoxpotentials und der Hemmungsintensität. Auf der andern Seite ist es *O. Hoffmann-Ostenhof* nicht gelungen, einen direkten Zusammenhang zwischen Potentialgrösse und Inhibition festzustellen. So zeigte dieser Forscher, dass z. B. 1,2-Naphtochinon ( $E_0$  576 mV) eine bedeutend stärkere Hemmung hervorruft als p-Benzochinon ( $E_0$  715 mV).

*Hellerman*, *Chinard* und *Deitz*<sup>2)</sup> haben versucht, sich etwas mehr Klarheit über den Wirkungsmechanismus der verschiedenen Inhibitoren bei der Urease zu verschaffen. Sie haben gefunden, dass nicht alle in der Urease enthaltenen SH-Gruppen ein gleichartiges Verhalten gegenüber verschiedenen Reagenzien aufweisen, wobei auch die Reaktionsfähigkeit nicht für alle gleich ist. Auf Grund dieses Verhaltens haben sie die verschiedenen SH-Funktionen in Gruppen eingeteilt. Die der Gruppe a zugehörigen —SH zeichnen sich durch eine grössere Reaktionsfähigkeit aus, wobei sie insbesondere gegen Oxydationsmittel und mercaptidbildenden Komponenten empfindlich sind.

<sup>1)</sup> *J. E. Page* und *J. G. Waller*, *Nature* **157**, 838 (1946).

<sup>2)</sup> *L. Hellerman*, *F. P. Chinard* und *V. R. Deitz*, *J. Biol. Chem.* **147**, 441 (1943).



**Tabelle 3.**

Die Enthemmung von mit 2-Chlor-1,4-naphtochinon gehemmter Urease.

Menge SH-Komponente	0 $\gamma$	15 $\gamma$	30 $\gamma$	60 $\gamma$	120 $\gamma$	240 $\gamma$	480 $\gamma$
% Aktivität m. $\text{Na}_2\text{S}$ , 9 $\text{H}_2\text{O}$ . .	40	55	58	76	—	—	—
% Aktivität m. Cystein, HCl . .	27	74	84	82	80	67	0
% Aktivität m. Glutathion . .	40	52	91	85	94	97	82

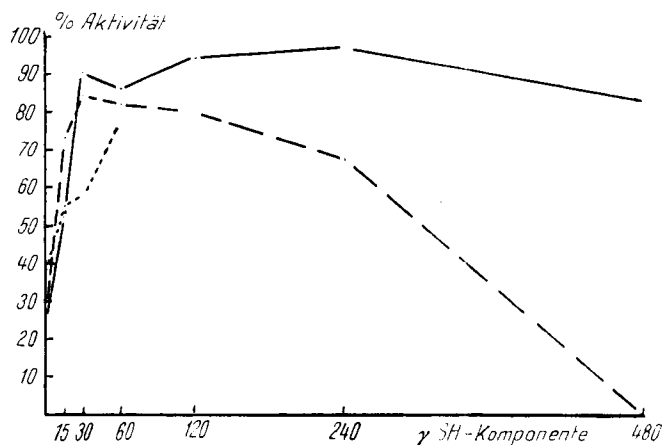


Fig. 2.

Enthemmung der mit 2-Chlor-1,4-naphtochinon gehemmten Urease.

.....  $\text{Na}_2\text{S}$ , 9  $\text{H}_2\text{O}$       - - - - Cystein, HCl      ——— Glutathion

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die durch die von uns untersuchten Naphtochinone bewirkte Inhibition auf einer Beeinflussung der essentiellen SH-Gruppen der Urease beruht. Die Untersuchungen von *Hellerman*, *Chinard* und *Beitz* machen es wahrscheinlich, dass sich die Naphtochinone mit den SH-Gruppen zu Mercaptiden vereinigen.

#### Die Enthemmung der Urease durch Zugabe von Naphtochinonderivaten mit Vitamin-K-Charakter.

Wie wir schon einleitend bemerkt haben, interessierte es uns, festzustellen, ob das Vitamin K (2-Methyl-1,4-naphtochinon) die durch Antivitamine bewirkte Hemmung der Urease rückgängig machen kann. So haben wir versucht, durch Zusatz von 2-Methyl-1,4-naphtochinon oder 2-Methyl-1,4-bisuccinyl-naphtohydrochinon zu einer mit 2-Chlor-1,4-naphtochinon gehemmten Urease eine Reaktivierung zu erzielen. Überraschenderweise konnte wirklich eine, wenn auch nicht 100-proz., so doch sehr deutliche Enthemmung beobachtet werden.



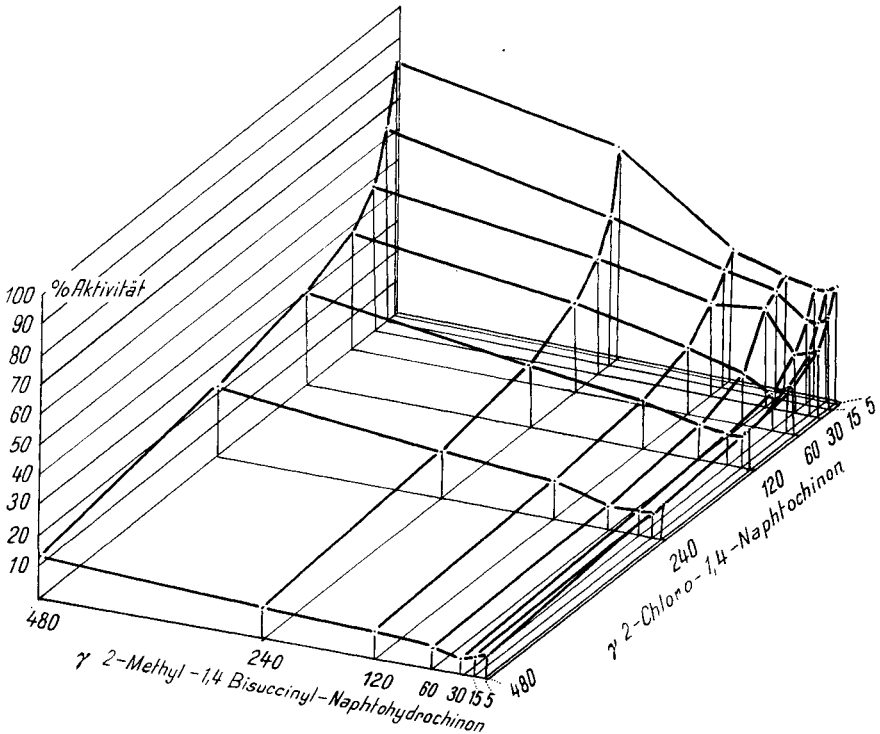
In Tabelle 4 zeigen wir die Mengen der Antagonisten, welche notwendig sind, um der Urease wieder eine Aktivität von 50% zu verleihen.

**Tabelle 4.**

Die 50-proz. Reaktivierung von mit 2-Chlor-1,4-naphtochinon inaktivierter Urease durch Zusatz von 2-Methyl-1,4-naphtochinon oder 2-Methyl-1,4-bisuccinyl-naphtohydrochinon.

Menge 2-Chlor-naphtochinon (Inhibitor) . . . . .	5 $\gamma$	15 $\gamma$	30 $\gamma$	60 $\gamma$
Menge 2-Methyl-naphtochinon (Antagonist) . . . . .	30 $\gamma$	120 $\gamma$	240 $\gamma$	480 $\gamma$
% Aktivität . . . . .	54	52	49	49
Menge 2-Methyl-bisuccinyl. (Antagonist) . . . . .	120 $\gamma$	240 $\gamma$	480 $\gamma$	
% Aktivität . . . . .	44	49	48	
% Aktivität der durch 2-Chlor-1,4-naphtochinon gehemmten Urease . . . . .	—	38	35	20

Die maximale Enthemmung von 5  $\gamma$  2-Chlor-naphtochinon wurde mit folgenden Mengen erreicht: 480  $\gamma$  2-Methyl-naphtochinon: 85%; 480  $\gamma$  2-Methyl-bisuccinyl.: 87%



**Fig. 3.**

Enthemmung der mit 2-Chlor-1,4-naphtochinon gehemmten Urease durch 2-Methyl-1,4-bisuccinyl-naphtohydrochinon.

In Fig. 3 bringen wir die graphische Darstellung der Resultate aus einem Schachbrettversuch. Als Inhibitor verwendeten wir wieder 2-Chlor-1,4-naphtochinon und als Antagonisten das 2-Methyl-1,4-bisuccinyl-naphtohydrochinon. Ein ganz analoges Bild ist bei der Verwendung von 2-Methyl-1,4-naphtochinon erhalten worden. Aus dieser dreidimensionalen Darstellung geht hervor, dass durch Zugabe steigender Mengen des Vitamins eine Steigerung der Aktivität der Urease zu beobachten ist. Je grösser allerdings die Menge des Inhibitors ist, desto weniger ausgeprägt ist die Enthemmung durch 2-Methyl-1,4-naphtochinon.

Dieser Versuch zeigt uns, dass auch bei der Urease eine Wechselwirkung zwischen Vitamin und Antivitamin K besteht.

### Zusammenfassung.

1. Es konnte gezeigt werden, dass sich die Ureasetätigkeit durch Naphtochinonderivate, deren Antivitamincharakter bei Mikroorganismen festgestellt wurde, hemmen lässt.

2. Durch Zugabe verschiedener Thiolverbindungen zum gehemmten Ferment kann dieses wieder reaktiviert werden. Daraus folgern wir, dass die Blockierung an den essentiellen SH-Gruppen erfolgen.

3. Eine Reaktivierung des durch Antivitamin K (2-Chlor-1,4-naphtochinon) gehemmten Fermentes kann durch Naphtochinonderivate mit Vitamin-K-Charakter bewirkt werden.

Diese Arbeit wurde mit Unterstützung der „Fritz Hoffmann-La Roche-Stiftung zur Förderung wissenschaftlicher Arbeitsgemeinschaften in der Schweiz“ ausgeführt, welcher wir zu grossem Dank verpflichtet sind.

Herr Professor P. Meunier und Herr Dr. Mentzer (Lyon) haben die grosse Freundlichkeit gehabt, uns das 2-Chlor-1,4-naphtochinon, das Dicumarol und das Phenylindandion zur Verfügung zu stellen.

Der Firma F. Hoffmann-La Roche danken wir verbindlichst für die Zusendung verschiedener Chinone.

Botanisches Institut der Universität Bern.

---