

Der Einfluß von Chinonen und anderen Wirkstoffen auf die Resorption von radioaktivem Phosphat durch Hefe.

(XVII. Mitteilung über antibakterielle Chinone und andere Antibiotica.)

Von

O. Hoffmann-Ostenhof und Else Kriz.

Aus dem I. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

(Eingelangt am 8. Aug. 1949. Vorgelegt in der Sitzung am 13. Okt. 1949.)

In einer früheren Arbeit¹ haben wir über die durch Chinone bewirkte Beeinflussung der Aufnahme extrazellulären Phosphats durch Hefe berichtet. Wir hatten damals die Phosphatresorption mit Methoden der chemischen Analyse bestimmt, was den Nachteil hat, daß nur die absolute Veränderung des Phosphatgehaltes der Hefezellen bzw. des Mediums meßbar ist, hingegen keinerlei Aussagen über einen eventuellen Phosphataustausch zwischen den Zellen und der umgebenden Lösung gemacht werden können.

Unsere damaligen Versuche ergaben, daß sowohl frische als auch verarmte Hefe unter dem Einfluß verschiedener Chinone in bestimmten Konzentrationen größere Mengen Phosphat aus der umgebenden Lösung aufnimmt als in Abwesenheit dieser Wirkstoffe unter sonst völlig gleichen Bedingungen.

Die seit einiger Zeit vorhandene Möglichkeit, radioaktiven Phosphor zu erhalten, hat uns nun dazu veranlaßt, unsere Versuche unter Verwendung dieses Hilfsmittels zu wiederholen und auf eine Anzahl weiterer Wirkstoffe zu erweitern. Die angewandte Methodik ist schon 1937 von *Hevesy*, *Linderström-Lang* und *Nielsen*² und seither von einer Reihe anderer Forscher zum Studium der Phosphatresorption von Hefe verwendet worden. Unsere damit erzielten Resultate entsprechen weitgehend den seinerzeit mit analytischen Mitteln erhaltenen, ergeben aber durch

¹ Mh. Chem. 79, 410 (1948).

² Nature (London) 140, 725 (1937).

die Möglichkeit, einen etwaigen Austausch von Phosphat zwischen Zelle und Medium zu verfolgen, Gesichtspunkte, die insbesondere im Zusammenhang mit den von uns kürzlich durchgeführten Untersuchungen über den Einfluß der Chinone auf verschiedene Stoffwechselfunktionen der Hefe³ an Interesse gewinnen.

Methodik.

Für die Versuche wurde Bäckerhefe der Ottakringer Brauerei, Wien XVI, verwendet. Die Hefe wurde entweder in frischer Form verwendet oder durch 18stündiges Schütteln mit destilliertem Wasser verarmt und erst dann angewandt.

Je 1 g frischer oder verarmter Bäckerhefe wurden in eine Lösung gebracht, welche an Glucose und an Phosphatpuffer nach *Sørensen* (pH 6,8) je $\frac{1}{15}$ molar war. Das radioaktive Phosphorpräparat wurde als $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ hinzugefügt; die auf ihre Wirkung zu untersuchende Substanz war vor Zugabe der Hefe in entsprechender Konzentration in der Nährlösung gelöst worden. Die Suspension wurde eine bestimmte Zeit (1, 3 oder 5 Stdn.) im Thermostaten bei 30° geschüttelt, die Hefe dann abzentrifugiert, gut gewaschen, durch ein Glasfrittenfilter *Schott G 4* abgepreßt und schließlich bei 100° getrocknet. Nach Bestimmung des jeweiligen Trockengewichtes wurde die Aktivität der Hefe im *Geiger-Müller*-Zählrohr gemessen.

Zur Bestimmung der Fähigkeit der Hefe, radioaktiven Phosphor unter bestimmten Bedingungen abzugeben, wurde zuerst Hefe einen Tag lang in dem oben beschriebenen Medium ohne Wirkstoffzusatz gehalten, die Hefe dann abzentrifugiert, gut gewaschen und 3 Stdn. lang in einem Medium gleicher Zusammensetzung, welches aber keinen radioaktiven Phosphor enthielt, bei 30° im Thermostaten geschüttelt. Nach Abzentrifugieren der Hefe bestimmten wir die Aktivität der überstehenden Lösung.

Ergebnisse.

Die Ergebnisse der wichtigsten Versuchsreihen sind in den Tabellen 1 bis 5 wiedergegeben.

Wir sehen aus Tabelle 1, daß in der ersten Stunde der Versuche sämtliche Chinone in fast allen untersuchten Konzentrationen die Phosphatresorption im Vergleich mit den Ansätzen ohne Chinonzugabe erhöhen. Im weiteren Versuchsverlauf bewirken aber die höheren Konzentrationen einen umgekehrten Effekt, nämlich ein sehr starkes Zurückbleiben der Phosphatresorption, während bei den niedrigeren Konzentrationen meist auch noch nach 5 Stdn. eine gesteigerte Phosphatresorption zu verzeichnen ist.

Die anderen von uns untersuchten Wirkstoffe zeigen ein von den Chinonen sehr abweichendes Bild, was ihren Einfluß auf die Phosphataufnahme betrifft. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 wiedergegeben.

³ Mh. Chem. 80, 678 (1949).

Tabelle 1. Prozentuelle Steigerung (+) bzw. Hemmung (—) der Phosphataufnahme von Hefe unter dem Einfluß von Chinonen (m/15 Glucose, m/15 Phosphatpuffer pH 6,8, 30°).

Substanz	Versuchszeit und molare Konzentration der Wirkstoffe im Versuchsansatz					
	1 Std.		3 Stdn.		5 Stdn.	
	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
a) <i>Frische Hefe.</i>						
Toluchinon	+ 2,0	+ 10,9	+ 17	— 39	+ 21	+ 2,8
5-Methoxytoluchinon	+ 7,8	+ 10,0	+ 12	— 49	+ 18	0
2-Methylnaphthochinon	0	+ 13,5	+ 11	— 90	+ 3,2	0
Naphthazarin	—	+ 2,2	+ 9,6	—	+ 13	+ 5,2
Phthiocol	+ 4,4	+ 12,7	— 2,0	— 91	— 15,5	0
b) <i>Verarmte Hefe.</i>						
Toluchinon	+ 5,8	+ 7,5	+ 11,3	— 16	+ 16,4	+ 4,2
5-Methoxytoluchinon	+ 1,7	+ 3,4	+ 5,0	— 34	+ 5,2	0
2-Methylnaphthochinon	0	+ 14	0	— 54	— 3,0	0
Naphthazarin	—	+ 6,3	+ 6,8	—	+ 1,0	0
Phthiocol	0	+ 3,8	— 8,4	— 95	— 19,2	0

Tabelle 2. Prozentuelle Steigerung (+) bzw. Hemmung der Phosphataufnahme von Hefe unter dem Einfluß verschiedener Wirkstoffe (m/15 Glucose, m/15 Phosphatpuffer pH 6,8, 30°).

Substanz	Versuchszeit und molare Konzentration der Wirkstoffe im Versuchsansatz					
	1 Std.		3 Stdn.		5 Stdn.	
	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻⁴
a) <i>Frische Hefe.</i>						
Jodessigsäure	— 28	— 17	— 41	— 5,3	— 80	0
Natriumarsenit	— 12	— 2,0	— 9,1	— 4,4	— 20	— 4,3
Stearyldimethylbenzylammoniumchlorid	—	— 5,4	—	— 1,4	—	— 6,6
Natriumfluorid	+ 13	+ 5,0	— 3,7	— 4,8	— 50	— 5,3
b) <i>Verarmte Hefe.</i>						
Jodessigsäure	— 78	— 22	— 87	— 30	— 92	— 32
Natriumarsenit	— 9,8	— 2,3	— 21	0	— 55	— 3,7
Stearyldimethylbenzylammoniumchlorid	—	— 2,8	—	— 2,8	—	— 3,2
Natriumfluorid	+ 3,4	+ 6,8	— 8,0	— 10,2	— 38	— 9,4

In Tabelle 3 sind schließlich die Effekte einiger zelleigener Wirkstoffe (Vitamine), welche zur umgebenden Lösung in einer Konzentration von 10 γ /ccm zugesetzt wurden, wiedergegeben.

Auch ohne den Zusatz von Glucose zum umgebenden Medium ist die Hefe imstande, Phosphat in allerdings weitaus geringerer Menge zu resorbieren. Wir haben den Einfluß einiger Wirkstoffe auf die Phosphatresorption in Abwesenheit von Glucose bei frischer und verarmter Hefe untersucht und geben die Resultate dieser Versuchsreihe in Tabelle 4 wieder.

Nach *Hevesy* und *Zerahn*⁴ gibt Hefe, welche radioaktiven Phosphor enthält, unter normalen Verhältnissen diesen nur in ganz geringer Menge wieder an eine umgebende Lösung ab. Die Autoren berichten, daß pro Tag 1 bis 4% des radioaktiven Phosphors aus der Zelle an das Medium abgegeben werden. Es erschien uns nun von Interesse zu untersuchen,

Tabelle 3. Prozentuelle Steigerung (+) bzw. Hemmung (—) der Phosphataufnahme von Hefe unter dem Einflusse zelleigener Wirkstoffe im Medium (m/15 Glucose, m/15 Phosphatpuffer pH 6,8, Konzentration der Wirkstoffe 10 γ /ccm, 30°, 5 Stdn.).

Substanz	Frische Hefe	Verarmte Hefe
Riboflavin	+ 24	+ 35
Thiamin	+ 7,3	+ 32
Pantothensäure	+ 3,0	+ 18
Nicotinsäure	— 3,0	+ 8,0

Tabelle 4. Prozentuelle Steigerung der Phosphataufnahme von Hefe in glucosefreiem Medium unter dem Einfluß verschiedener Wirkstoffe (m/15 Phosphatpuffer pH 6,8, Wirkstoffkonzentration 10⁻⁴ molar, 30°).

Substanz	Frische Hefe		Verarmte Hefe	
	1 Std.	5 Stdn.	1 Std.	5 Stdn.
Toluchinon	7,2	15,1	7,0	17,2
Naphthazarin	0	22,8	0	21,5
Jodessigsäure	14,1	20,2	3,6	5,7
Natriumarsenit	0	10,4	0	16,9
Stearyldimethylbenzylammoniumchlorid	11,0	14,9	12,4	23,3
Natriumfluorid	—	0	11,4	17,6

ob etwa einige der von uns verwendeten Wirkstoffe imstande sind, diese Eigenschaft der Hefe so zu ändern, daß die Hefe auch die Fähigkeit erhält, Phosphat abzugeben, also ein Austausch und nicht nur eine Resorption des Phosphats stattfindet. Tatsächlich konnten wir bei manchen der Substanzen derartige Effekte beobachten; die Chinone und Natriumarsenit erwiesen sich allerdings als wirkungslos. Über-

⁴ Acta Radiol. 27, 157 (1946).

raschenderweise waren die verwendeten Vitamine Riboflavin, Thiamin und Nicotinsäure, nicht aber Pantothensäure, in dieser Hinsicht aktiv. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe finden sich in Tabelle 5.

Tabelle 5. Abgegebene Menge aktiven Phosphors aus P^{32} -haltiger Hefe in Prozenten ihres ursprünglichen P^{32} -Gehaltes (Zusammensetzung des umgebenden Mediums: m/15 Glucose, m/15 Phosphatpuffer pH 6,8; Versuchsdauer 3 Stdn., 30°).

Substanz	Molare Konzentration der Wirkstoffe	
	10^{-3}	10^{-4}
Natriumfluorid	23	14
Jodessigsäure	82	63
Stearyldimethylbenzylammoniumchlorid	—	7
Riboflavin	} Konzentration 10 μ /ccm {	17,4
Thiamin		17,4
Nicotinsäure		60,0

Diskussion.

Bevor wir hier in die Besprechung der erhaltenen Ergebnisse eingehen wollen, erscheint es angezeigt, kurz einen Überblick zu geben über den derzeitigen Stand des Wissens über die Fähigkeit der Hefezelle, Orthophosphat zu resorbieren.

Hevesy und Mitarbeiter² führten als erste Untersuchungen über den Austausch radioaktiven Phosphats durch die Hefezelle durch. Sie arbeiteten bei 25° und bei 0° ; die Versuche wurden mit und ohne Glucosezusatz durchgeführt. Der Phosphorgehalt der Lösung wurde sowohl chemisch als auch radioaktiv bestimmt. Dabei ergab sich, daß im Falle einer Phosphataufnahme durch die Zelle die chemische wie auch die radioaktive Methodik die gleichen Resultate ergaben, woraus sich schließen läßt, daß nur eine Resorption, nicht aber ein Austausch von Phosphationen zwischen Zelle und Medium stattfindet. Eine Phosphatresorption wurde nur in Anwesenheit von Glucose und bei 25° gefunden. Analoge Ergebnisse erhielten *Lawrence*, *Erf* und *Tuttle*⁵; sie stellten außerdem fest, daß die Aufnahme von P^{32} durch Natriumfluorid gehemmt wird.

Eine sehr gründliche Untersuchung über das Problem verdanken wir *Mullins*⁶, welcher Versuche über die Phosphatresorption der Hefezellen bei verschiedenem Sauerstoffdruck, verschiedener Temperatur und verschiedenem Zusatz von Kohlehydraten durchführte. Dabei wurde festgestellt, daß weder das Wachstum der Hefe, noch der Sauerstoffdruck einen wesentlichen Einfluß auf die Phosphataufnahme haben;

⁵ J. appl. Physics **12**, 333 (1941).

⁶ Biologic. Bull. **83**, 326 (1942).

hingegen fand sich eine starke Abhängigkeit vom Kohlehydratgehalt des Mediums und von der Versuchstemperatur. An dieser Stelle ist auch eine Arbeit von *Malm*⁷ zu erwähnen, welcher gleichartige Versuche mit nichtmarkiertem Phosphat durchführte. Er beobachtete, daß bei einer gewissen Mindestkonzentration an Phosphat dieses auch in an Nahrungstoffen verarmte Hefezellen einzudringen imstande ist. *Malm* konnte auch feststellen, daß die Phosphatresorption bei pH 5,28 eine weitaus stärkere ist als bei pH 6,8. Im Rahmen unserer eingangs erwähnten früheren Untersuchung¹ haben wir die Ergebnisse von *Malm* zum größten Teil reproduzieren können. Später konnte *Malm* in einer anscheinend nicht publizierten Arbeit⁸ nachweisen, daß ruhende Hefezellen auch in Abwesenheit von Glucose in den ersten drei Stunden des Versuches radioaktives Phosphat resorbieren.

Eine bereits erwähnte Arbeit von *Hevesy* und *Zerahn*⁴ zeigt, daß auf einem radioaktiven Phosphor enthaltenden Medium gewachsene und daher radioaktiven Phosphor enthaltende Hefe diesen unter aeroben Bedingungen nur in sehr geringen Mengen abgibt, wenn sie gewaschen und dann einen Tag mit einer Nährlösung geschüttelt wird, welche keinen radioaktiven Phosphor enthält. Röntgenstrahlen haben kaum einen Einfluß auf die Phosphatabgabe der Hefe an die Nährlösung; hingegen sind ultraviolette Strahlen imstande, einen weitaus größeren Phosphataustritt aus der Zelle zu bewirken, als er in den Kontrollversuchen vorgefunden wird.

Alle bisher berichteten Befunde scheinen in die Richtung zu deuten, daß, wie schon *Lawrence* und Mitarbeiter⁵ annahmen, die Aufnahme von Orthophosphat mit der Intensität des Stoffwechsels und nicht mit dem Wachstum der Zellen proportional ist. Diese Ansicht wurde auch von unserer Seite¹ vertreten, und zwar entwickelten wir damals die Vorstellung, daß es der Phosphatbedarf der anaeroben Gärung sei, welcher für die Phosphatresorption hauptsächlich verantwortlich ist. In letzter Zeit haben nun *Nickerson* und *Mullins*⁹ sowie *Nickerson*¹⁰ bemerkenswerte Ansichten über die Zusammenhänge zwischen der Phosphataufnahme und verschiedenen Stoffwechselfunktionen der lebenden Zelle geäußert. Auf Grund paralleler Aktivierung der Phosphatresorption, der Umwandlung des Orthophosphats zu Metaphosphat (*Wiame*¹¹) und der Glucoseassimilation durch Riboflavin und ebenso übereinstimmender Hemmung derselben Vorgänge durch 2,4-Dinitro-

⁷ Naturwiss. 29, 318 (1941).

⁸ Zitiert nach *G. Hevesy*, Radioactive Indicators. New York: Interscience. 1948.

⁹ Nature (London) 161, 939 (1948).

¹⁰ Exper. 5, 202 (1949).

¹¹ Biochim. biophys. Acta 1, 234 (1947).

phenol und Natriumazid nimmt *Nickerson* an, daß zwischen diesen Stoffwechselfvorgängen kausale Zusammenhänge bestehen¹⁰. Es wird sogar die Existenz einer 1 : 1-Beziehung zwischen Kohlehydratassimilation und Phosphatresorption postuliert⁹. Die Autoren halten im Anschluß an einen Gedanken von *Hevesy*¹² die Existenz eines Phosphorkomplexe bildenden Faktors an der Zelloberfläche wahrscheinlich.

Die von uns in dieser Mitteilung berichteten Ergebnisse bestätigen nun, zumindest qualitativ, unsere seinerzeit¹ mit einer anderen Methodik erhaltenen Resultate und erweitern sie in verschiedener Richtung. Es konnte festgestellt werden, daß sämtliche untersuchten Chinone in 10^{-3} molarer Konzentration in der ersten Stunde des Versuches entweder keine Beeinflussung oder eine Steigerung der Phosphatresorption verursachen, während nach 5 Stdn. mit allen Chinonen bei dieser Konzentration eine starke Hemmung der Phosphataufnahme festzustellen ist. 10^{-4} molare Chinonverdünnungen wirken fast immer sowohl nach 1 als auch nach 3 und 5 Stdn. aktivierend auf die Phosphatresorption, bei 10^{-5} molarer Konzentration sind Wirkungen kaum mehr feststellbar. Diese Beobachtungen konnten sowohl bei frischer als auch bei durch 18stündiges Schütteln mit destilliertem Wasser an Nährstoffen verarmter Hefe in Anwesenheit von Glucose im Medium gemacht werden.

Auch die geringe Phosphatresorption der verarmten Hefe in Abwesenheit von Glucose wird durch 10^{-4} molare Konzentrationen von Toluchinon und Naphthazarin — Versuche mit anderen Chinonen wurden nicht durchgeführt — gesteigert. Die Chinone haben weiters keinen Einfluß auf die Permeabilitätsverhältnisse der Hefezelle, soweit Phosphationen in Frage kommen. Auf radioaktivem Nährboden gewachsene Hefe, welche in einer mit Chinonen versetzten, keinen radioaktiven Phosphor enthaltenden Nährlösung geschüttelt wurde, gab ebenso wie Kontrollansätze ohne Chinone keine meßbaren Mengen an radioaktivem Phosphor ab.

Zur Erklärung all dieser Erscheinungen müssen diese mit den Ergebnissen unserer Versuche über den Einfluß der Chinone auf verschiedene Stoffwechselfunktionen der Hefe³ in Beziehung gebracht werden. Es wurde damals festgestellt, daß die Chinone in Konzentrationen zwischen 10^{-4} und 10^{-5} molar imstande sind, einerseits die Glykogenbildung und die Atmung der Hefe in einem beträchtlichen Ausmaße zu hemmen, andererseits aber die CO_2 -Ausbeute bei der alkoholischen Gärung und die Sterinbildung, wie auch teilweise die Gesamtlipoidproduktion der Hefezelle zu steigern. Wir wissen nun von der anaeroben Gärung, daß sie ein Prozeß ist, bei dem anorganisches Phosphat verbraucht wird und wir haben schon in unserer früheren Arbeit die Ansicht vertreten, daß die Chinone den Phosphatbedarf der Zelle und damit auch die Phosphat-

¹² Adv. Enzymol. 7, 111 (1947).

resorption dadurch steigern, daß sie einen Orthophosphat benötigenden Stoffwechselprozeß, wie z. B. die anaerobe Gärung, fördern, wobei die aktivierende Wirkung der Chinone auf die Gärung uns damals noch nicht bekannt war.

Es erscheint uns allerdings heute weniger wahrscheinlich, daß die Chinone eine direkte Wirkung auf einen Teilprozeß der Gärung, wie etwa eine Funktion als Wasserstoffacceptor, haben, da in diesem Falle neben einer Erhöhung der Menge an gebildetem Endprodukt auch eine Beschleunigung des Gärungsprozesses gerade im Anfangsstadium zu erwarten wäre, was wir aber nie beobachten konnten³.

Trotzdem bleiben wir bei der Meinung, daß die Wirkung der Chinone auf die Phosphatresorption mit ihren Effekten auf den Gärvorgang in einem direkten Zusammenhang steht. Der uns jetzt wahrscheinlicher erscheinende Mechanismus sollte darauf beruhen, daß die Hefezelle, die, wie gezeigt wurde³, unter dem Einfluß von Chinonen weniger Reservekohlehydrate (Glykogen) als in Kontrollversuchen bildet, einen Teil des sonst für diesen Zweck verwendeten Kohlehydrats anaerob vergärt, wodurch ein entsprechend höherer Phosphatbedarf verständlich wird.

Die Beobachtung, daß die Chinone in bestimmten Konzentrationen einerseits die Glykogenbildung hemmen und andererseits die Phosphatresorption fördern, steht nun im diametralen Gegensatz zu der Auffassung von *Nickerson* und *Mullins*⁹, daß zwischen Glucoseassimilation und Phosphatresorption eine 1:1-Beziehung besteht. Wir begehen dabei kaum einen Fehler, wenn wir den von den Autoren Glucoseassimilation genannten Prozeß, der in ihren Arbeiten auch manchmal als Glucosepolymerisation bezeichnet wird, weitgehend mit der von uns untersuchten Glykogenbildung gleichsetzen, da ja das Hefeglykogen zweifellos das wichtigste Produkt der Glucoseassimilation bzw. Glucosepolymerisation darstellt. Die gefundenen Parallelen zwischen Phosphatresorption und Glucosepolymerisation, was deren Beeinflussung durch drei verschiedene Wirkstoffe betrifft, scheint diese Autoren zu ihrer geschilderten Annahme veranlaßt zu haben; diese muß aber auf Grund unserer Befunde abgelehnt werden.

Die Beobachtung, daß Chinone in 10^{-3} molarer Konzentration in der ersten Stunde des Versuches die Resorption des radioaktiven Phosphats merklich fördern, nach 5 Stdn. aber ein starker Abfall der Phosphataufnahme im Vergleich mit den Kontrollversuchen zu beobachten ist, läßt sich mit einiger Wahrscheinlichkeit so erklären, daß diese Konzentration, wie schon in früheren Arbeiten¹³ gezeigt wurde, letale Wirkun-

¹³ *O. Hoffmann-Ostenhof, P. Wertheimer und K. Gratzl, Exper.* **3**, 327 (1947). — *O. Hoffmann-Ostenhof und H. Fellner-Feldegg, Mh. Chem.* **80**, 648 (1949).

gen auf die Hefezellen ausüben, so daß während der Versuchsdauer alle oder eine große Anzahl der Hefezellen absterben und kein Phosphat mehr resorbieren.

Es bleibt uns hier noch die Besprechung der Effekte der anderen untersuchten Wirkstoffe: Jodessigsäure, Natriumarsenit, Stearyldimethylbenzylammoniumchlorid (als Vertreter der Invertseifen), Natriumfluorid, Riboflavin, Thiamin, Pantothersäure und Nicotinsäure. Hier ist vor allem hervorzuheben, daß Jodessigsäure, Natriumfluorid und die Invertseife, aber auch Riboflavin, Thiamin und Nicotinsäure eine bemerkenswerte und unseres Wissens noch nicht beschriebene Wirkung auf die Permeabilitätsverhältnisse der Hefezelle derart ausüben, daß sie einen Austausch zwischen der Zelle und dem umgebenden Medium ermöglichen, eine ähnliche Wirkung also, wie sie von der ultravioletten Strahlung berichtet wurde⁴. Die mit diesen Substanzen bei den Resorptionsversuchen gefundenen Ergebnisse sind also nicht ohne weiteres mit den mit den Chinonen erhaltenen zu vergleichen. Von den zuletzt genannten Wirkstoffen verhalten sich nur Natriumarsenit und Pantothersäure in dieser Hinsicht analog zu den Chinonen.

Riboflavin, Thiamin, Pantothersäure und Nicotinsäure bewirken im übrigen in einer Konzentration von 10 γ /ccm fast durchwegs eine beträchtliche Förderung der Phosphatresorption der Hefe im glucosehaltigen Medium; einzig die Versuchsansätze mit Nicotinsäure und frischer Hefe ergaben eine geringe Hemmung der Phosphataufnahme, was sich vielleicht auf die geschilderte Permeabilitätsstörung zurückführen läßt. Für Riboflavin ist der aktivierende Effekt auf die Phosphatresorption der Hefezelle bereits von *Nickerson* und *Mullins*⁹ beschrieben worden. Jodessigsäure, Natriumarsenit und die Invertseife haben hingegen die Fähigkeit, die Phosphatresorption auf glucosehaltigem Medium in allen Fällen zu hemmen; frische Hefe scheint allerdings imstande zu sein, Jodessigsäure in einer 10^{-4} molaren Konzentration innerhalb 5 Stdn. zu entgiften, da nach dieser Zeit kein Unterschied gegenüber den Kontrollversuchen mehr gefunden wird. Interessant ist auch die Beobachtung, daß Natriumfluorid in der ersten Stunde des Versuches die Phosphatresorption aktiviert; diese erscheint allerdings schon nach 3 Stdn. merklich und nach 5 Stdn. stark gehemmt.

Über den Wirkungsmechanismus der zuletzt geschilderten Effekte können zur Zeit nur Vermutungen aufgestellt werden. Von den vier zuletzt genannten Stoffen ist aber bekannt, daß sie imstande sind, die anaerobe Gärung zu hemmen. Auch hier erscheint uns ein Zusammenhang zwischen der Wirkung auf die Phosphatresorption und derjenigen auf die anaerobe Glucosedissimilation nicht unwahrscheinlich.

Die Beobachtung, daß Jodessigsäure, Natriumfluorid, die Invertseife und Natriumarsenit in Abwesenheit von Glucose sowohl bei frischer

als auch bei verarmter Hefe die Phosphatresorption steigern, läßt sich mit den bisher bekannten Tatsachen über diese Substanzen und ihre Wirkungen auf die Zelle nicht erklären. Es mag sein, daß die Restresorption des Phosphats in Abwesenheit von Glucose ein von der normalen Phosphatresorption grundsätzlich verschiedener Vorgang ist, der anderen Gesetzen folgt als diese.

In Anbetracht der Untersuchungen von *Nickerson* und *Mullins* mag es von Interesse sein, die Wirkung der zuletzt besprochenen Wirkstoffe auf die Phosphatresorption in Anwesenheit von Glucose mit ihren Effekten auf die Glykogenproduktion der Hefe zu vergleichen. Wie wir seinerzeit berichtet haben³, hemmen alle diese Substanzen die Reservekohlehydratbildung der Hefe in einem beträchtlichen Ausmaße; wir finden hier also genau dieselbe Parallele, welche *Nickerson* und *Mullins* bei Riboflavin, 2,4-Dinitrophenol und Natriumazid beobachtet haben, woraus sie dann ihre geschilderten Schlußfolgerungen gezogen haben. Unter den bis jetzt untersuchten Wirkstoffen zeigen einzig allein die Chinone keine derartigen Übereinstimmungen.

Es sei uns an dieser Stelle erlaubt, Frau Prof. Dr. *Berta Karlik* vom Radiuminstitut der Österreichischen Akademie der Wissenschaften für die Überlassung des radioaktiven Phosphors, Frau *Lydia Sverak* für ihre Mithilfe bei den Versuchen, sowie Herrn Prof. Dr. *L. Ebert* für sein förderndes Interesse an dieser Arbeit zu danken.

Zusammenfassung.

Es wurde die Wirkung verschiedener Chinone und anderer Wirkstoffe auf die Resorption von radioaktivem Phosphor durch frische und verarmte Hefe mit und ohne Glucosezusatz zum Medium untersucht. Es zeigte sich, daß fast sämtliche Chinone in 10^{-4} molarer Konzentration die Resorption des markierten Phosphats zu steigern imstande sind. Dies läßt sich unseres Erachtens nach mit einer bereits früher beobachteten Förderung der anaeroben Gärung durch dieselben Substanzen in Zusammenhang bringen. Die Tatsache, daß die Chinone einerseits die Phosphatresorption steigern, andererseits aber, wie in einer früheren Arbeit gezeigt wurde, die Bildung des Hefeglykogens hemmen, widerspricht einer kürzlich von *Nickerson* und *Mullins* geäußerten Anschauung, daß zwischen Phosphatresorption und Glucoseassimilation ein kausaler Zusammenhang bzw. sogar eine 1:1-Beziehung besteht.

Ein bemerkenswertes Ergebnis der Untersuchung ist auch die Beobachtung, daß Jodessigsäure, Natriumfluorid und Stearyldimethylbenzylammoniumchlorid eine Rückwanderung des Phosphats aus der Zelle in das Medium verursachen, was in Kontrollversuchen ohne Wirk-

stoff, aber auch unter dem Einfluß von Chinonen und Natriumarsenit nicht der Fall ist. In der untersuchten Konzentration von 10 γ /ccm bewirken übrigens auch Riboflavin, Thiamin und Nicotinsäure dieselbe Permeabilitätsschädigung wie Jodessigsäure, Fluorid und die Invertseife.

Die letztgenannten Substanzen sowie Natriumarsenit haben auf die Phosphatresorption der Hefezelle auf glucosehaltigem Medium einen hemmenden Einfluß, wirken dagegen aktivierend auf die Phosphataufnahme verarmter Hefe im glucosefreien Medium. Riboflavin, Thiamin und Pantothensäure fördern auf glucosehaltigem Nährboden die Phosphatresorption beträchtlich.