

**Summary**

Dogs were immunized with actin solutions prepared from rabbit, pigeon, and frog muscle by the method of STRAUB i.e. HORVÁTH. The immune sera reacted equally with the homologous and heterologous antigens, but they did not precipitate the serum-proteins of species-identical animals. These experiments indicate that actin is an organ-specific isoantigen which has no species specificity.

**Über die fungizide Wirkung einiger Kupfer-äthylen diaminsulfonamidkomplexe**

Es ist auffallend, daß man bis heute in der Literatur noch keine Daten über Komplexsalze der Sulfonamide gefunden hat. Man erwähnt einfache Doppelsalze des Sulfanilamids mit einigen Schwermetallen, wie Ag, Bi, Cu, Hg<sup>1</sup>, als auch Phenylmercuri- und Diphenylmercuriderivate<sup>2</sup>. Ein Derivat des Sulfathiazols wird von TODD als  $(C_6H_5SO_2)_2Cu_2(OH)_2$ <sup>3</sup> beschrieben. Außerdem werden nicht näher charakterisierte Verbindungen genannt<sup>4</sup>, die in Aceton und anderen organischen Lösungsmitteln löslich sind. Es werden Arylsulfonamide mit Cu(OH)<sub>2</sub> in wäßriger Lösung behandelt und im Vakuum verdampft.

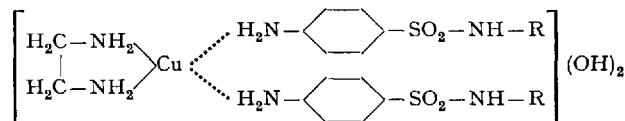
Ich habe mit meinen Assistenten, RAMIREZ, CABAJAL, URETA, ORTIZ und BERMEA mit der Darstellung neuer Komplexsalze der Sulfonamide begonnen. Wegen der Möglichkeit einer pharmakologischen Spezialwirkung, versuchten wir in erster Linie wasserlösliche Komplexe der Schwermetalle zu erhalten. Zu diesem Zwecke benutzten wir das große Komplexbildungsvermögen und die lytropisierenden Eigenschaften des Äthylen diamins. Versuche mit Triäthanolamin und anderen Aminen sind im Gange.

Wie wir bereits in früheren Mitteilungen berichtet haben, wurden bis heute einige Komplexe des Kupfers mit verschiedenen Sulfonamiden<sup>5</sup> sowie auch solche mit Zink, Kobalt und Nickel hergestellt<sup>6</sup>.

Die Methode gestaltet sich in großen Zügen wie folgt: Es wird 1 Mol frisch gefälltes und gut ausgewaschenes MeOH in 2–4 Mol Äthylen diamin (als 65–68%iges Produkt angewendet) aufgelöst – im allgemeinen bei Zimmertemperatur –, und nachher mit 1–2 Mol des Sulfonamids bis zur vollkommenen Auflösung gerührt. Dann wird die Mischung 1–24 Stunden stehengelassen, durch Frittglas filtriert und mit Alkohol oder Alkoholäther gefällt. Der Niederschlag wird auf einer Nutsche mit dem gleichen Fällungsmittel ausgewaschen und filtriert. Nach Trocknen im Vakuum werden zumeist gut definierte Verbindungen erhalten, in einigen Fällen im kristallinen Zustand. Die Rekrystallisation aus Wasser mit 1–2 Tropfen Äthylen diamin gelingt nur in Ausnahmefällen.

Die bisher genau untersuchten Kupfer-Äthylen diaminkomplexe (mit Sulfanilamid, Sulfathiazol, Sulfamethylthiazol und Sulfadiazin) sind – abgesehen vom Sulfathiazolkomplex – im Wasser in der Kälte, bei 90°C alle ziemlich gut löslich. Die Kupferreaktion ist negativ. In den gewöhnlichen organischen Lösungsmitteln sind alle unlöslich, aber in Glykol und Glycerin lösen sie sich – ebenfalls ohne Kupferreaktion zu geben – auf, ausgenommen der wenig lösliche Sulfathiazolkomplex. Weiterhin sind die Komplexe in wäßriger Natronlauge

wie auch in Ammoniak löslich und geben ebenfalls keine Kupferreaktion. Sie lösen sich auch in Mineralsäuren und Essigsäure, werden aber dabei zersetzt. Alle besitzen einen scharfen Schmelzpunkt und Zersetzungspunkt. Die N, S und Cu Werte sind in gutem Einklang mit der vorgeschlagenen Formel. Die Molekulargewichtsbestimmungen (der löslichen nicht acylierten) Komplexe mit Hilfe der ebullioskopischen Methode von BECKMANN stimmen hiermit (mit ungefähr –10% Annäherung) überein.



Im Laboratorium für Bakteriologie des Biologischen Instituts der Technischen Hochschule und Laboratorium für Mykologie des Instituts für Tropische Erkrankungen wurden kürzlich die 4 erwähnten wie auch andere unten angeführte Kupfer-Äthylen diamin-Sulfameracinkomplexe unter Leitung von OCHOA und BOJALIL<sup>1</sup> eingehend auf ihre fungizide und fungistatische Wirkung untersucht. Wie bekannt, haben einige Sulfonamide gewisse Wirkung auf Pilze aber nur in ganz hoher Konzentration, z. B. auf *Actinomycetes*<sup>2</sup>.

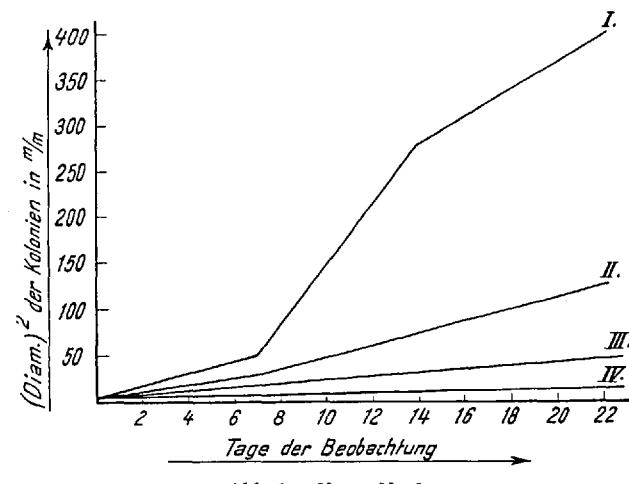


Abb. 1. – Kurve Nr. 1.

I: Kontrolle  
II: 1:10000  
III: 1:5000  
IV: 1:2000

Verdünnungen der Sulfameracinkomplexe

Es wurden folgende 11 Spezies geprüft: *Candida albicans* aus Sputum, *Epidermophyton floccosum*, *Hormodendrum podrosoi*, *Blastomyces dermatitidis*, *Cryptococcus neoformans*, *Nocardia brasiliensis* aus *Micetoma abdominalis*, *idem* aus dem Thorax, *idem* aus den Muskeln, *Nocardia asteroides*.

Im Medium von Sabouraud (Gelatine 2%, Glukose 2%, Pepton 1%,  $p_H$ : 5,8) wurden folgende 9 Sulfonamid-Kupferkomplexe: Sulfameracin, Acetylsulfanilamid,

<sup>1</sup> Anales de la Esc. Nac. Cienc. Biol., im Druck.

<sup>2</sup> E. M. HILLER und E. H. FELL, J. Amer. Med. Ass. 112, 731 (1939). – W. E. B. HALL, idem 112, 2190 (1939). – L. DOBSON und W. C. CUTTING, idem 116, 272 (1941). – W. F. HOLLENBECK und D. TURNOFF, idem 123, 1115 (1943). – W. E. LADD und A. H. BILL, New England J. Med. 229, 748 (1943). – H. R. DECKER, J. Thoracic. Surg. 15, 430 (1946). – E. L. KEENEY, L. AJELLO und E. LANKFORD, Bull. Johns Hopkins Hosp. 75, 393 (1944). – F. T. WOLF, Mycologia 38, 213 (1946). – OCHOA GONZALEZ, Rev. Inst. Salubr. y Enf. Trop. 6; A., 155 (1945), Mexico, D. F.; MADELOS ANGELES SANDOVAL; idem 10, 70 (1949).

<sup>1</sup> Franz. Pat. Nr. 849504, Mouneyrat.

<sup>2</sup> U.S. Pat. Nr. 2135553, Lever Bros., Co.

<sup>3</sup> Arch. Biochem. 4, 343 (1944).

<sup>4</sup> Ung. Pat. Nr. 127081, I. Egger.

<sup>5</sup> J. ERDOS, Ciencia 8, 265 (1948) Mexico, D. F. 5; Anales de la Esc. Nac. Cienc. Biol. 5, 105 (1948).

<sup>6</sup> J. ERDOS und R. RAMIREZ, idem im Druck. – J. ERDOS und L. ORTIZ, idem. – J. ERDOS und M. BERMEA, idem.

Sulfanilamid, Succinylsulfathiazol, Sulfamethylthiazol, Sulfadiazin, Sulfapyridin, Phtalylsulfathiazol, Sulfathiazol in wechselnder Konzentration gelöst und auf Zimmertemperatur (19–23° C) gehalten, und mit einem ungefähr 1 mm großen Stück der Pilzkulturen geimpft. Für jede Kultur und Konzentration wurden 13 Röhrchen benutzt; 9 Röhrchen enthalten die Komplexe, 4 dienten als Kontrolle. Es wurden die Durchmesser der Kolonien bestimmt und nach der Technik von OCHOA und ZOZAYA<sup>1</sup> auf die Ordinate das Quadrat der Durchmesser der Kolonien und auf die Abszisse die Tage aufgezeichnet.

Auf *Hormodendrum pedrosoi* hatte der Sulfanilamidkomplex noch in 1:10000 Verdünnung einen ausgeprägt hemmenden Effekt; Sulfadiacin, Sulfapyridin und Sulfathiazol bei 1:5000, die übrigen auch bei 1:2000 nur eine kaum wahrnehmbare Wirkung (Abb. 1); *Nocardia brasiliensis* wird durch den Sulfathiazolkomplex auch bei auffallend großer Verdünnung 1:150000 deutlich gehemmt (Abb. 2); bei 1:50000 ist auch der Sulfameracinkomplex aktiv (Abb. 3), und bei Verdünnungen 1:20000 haben noch alle anderen einen ausgeprägten Effekt, ausgenommen die Succinyl- und Acetylsulfanilamidkomplexe, welche auch in der Verdünnung 1:2000

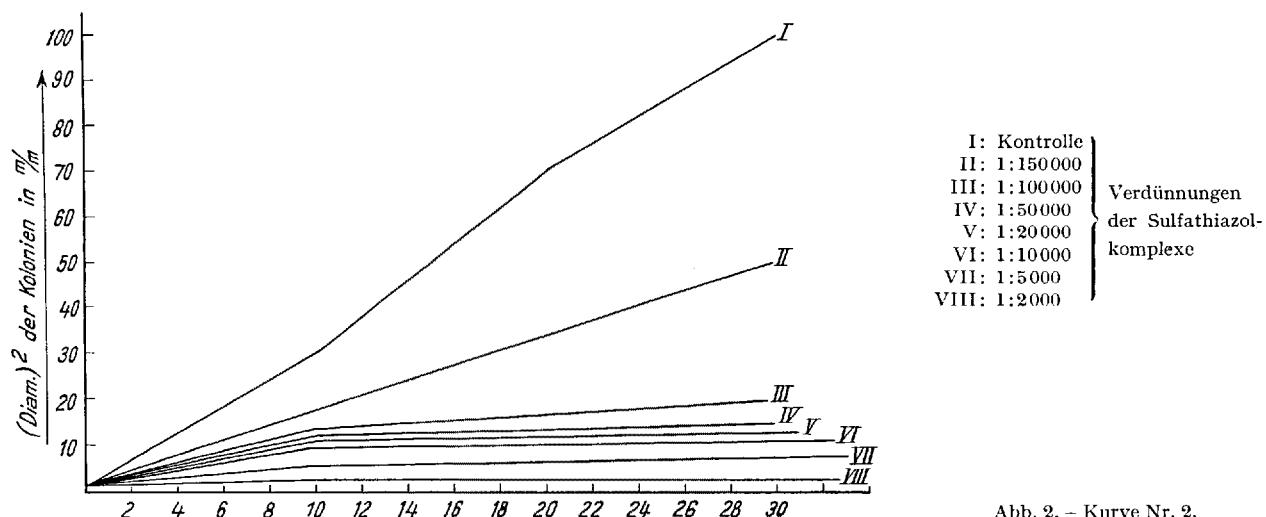


Abb. 2. – Kurve Nr. 2.

Auf *Candida albicans*, *Epidermophyton floccosum* hatte keiner der untersuchten Komplexe eine hemmende Wirkung in Konzentrationen 1:2000. *Cryptococcus neoformans* zeigte hierbei eher eine schwache Förderung. *Blastomyces dermatitidis* wurde in Konzentration 1:2000 mit allen Komplexen gehemmt. Bei 1:5000 Verdünnung zeigte der Sulfameracinkomplex ausgeprägte, Sulfapyridin, Sulfanilamide und Acetyl-Sulfanilamid in der gleichen Verdünnung eine kaum merkbare Wirkung.

nicht wirken. *Nocardia asteroides* verhält sich gegen den Sulfathiazolkomplex viel widerstandsfähiger: auch in Konzentrationen von weniger als 1:100000 wird keine Hemmung bemerkt.

In Kontrollversuchen wurden sowie Kupfersulfat als auch die entsprechenden Sulfa-Äthylendiaminlösungen in den entsprechenden Konzentrationen geprüft. Zumeist wurden Verdünnungen 1:2000 der Kupfer/Äthylen-diaminsulfa-Komplexe (8–13% Kupfer, 8–12% Äthy-

<sup>1</sup> OCHOA GONZALEZ A. und J. ZOZAYA, Rev. Inst. Salubr. y Enf. Tropicales 3, 145 (1942), Mexico, D. F.

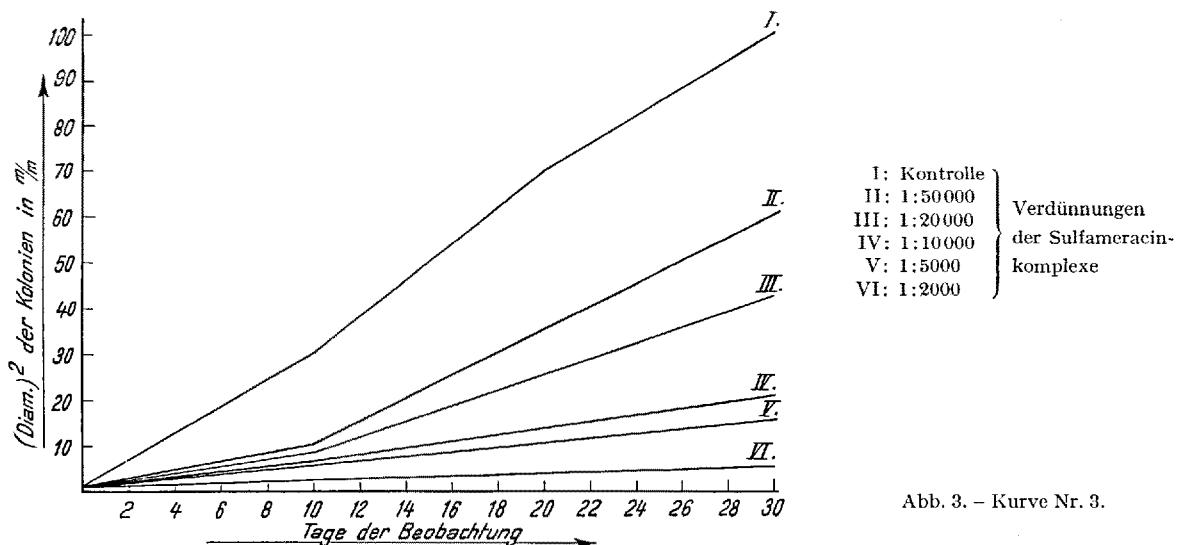


Abb. 3. – Kurve Nr. 3.

lendiamin, d. h. 85–90% Äthylendiaminsulta enthaltend) angewendet, also 1:15000 bis 25000 Cu (1:3750–6250 CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O) und 1:2200–2300 Äthylendiamin-Sulfonamid. Es zeigte sich gar keine oder nur kaum wahrnehmbare fungistatische Wirkung, so daß unzweifelhaft eine ausgesprochen synergistische Wirkung der Komponenten in den Kupfer-Äthylendiaminsulfonamid-Komplexen vorhanden ist. – Die große Differenz der 2 Nocardia-Stämme gegen den Sulfathiazolkomplex ermöglicht eine Differenzierung der genannten Spezies.

Auf Grund der vielversprechenden *in-vitro*-Versuche sind Toxizitätsbestimmungen sowie Untersuchungen über die Ausscheidung und Akkumulation in den verschiedenen Organen und Drüsen in unserem Laboratorium sowie über eine mögliche bakteriostatische und bakterizide Wirkung der neuen Komplexe, im Gange. Hierüber werden wir später berichten.

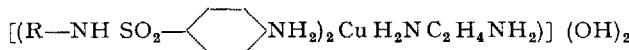
JOSÉ ERDOS

Forschungslaboratorium für organische Chemie der Technischen Hochschule Mexico, D. F., den 30. Januar 1950.

#### Summary

Preparation of new complexes of sulfas with ethylenediamine and Cu, Zn, Co and Ni in general: 1 mol of MeOH freshly precipitated and very well washed is dissolved in 2 or more mol of ethylenediamine monohydrate, 1–2 mol of sulfa is to be added, it is filtered, and the liquid is precipitated and washed with ethyl alcohol and ethyl alcohol-ether. Dried in vacuum.

Physical characteristics of the new complexes and the formula proposed for some containing copper, based on analytical data, are reported:



In the midst of Saboureaud and at normal temperature the following fungi are inoculated: *Candida albicans* (of spittle), *Epidermophyton floccosum*, *Hormodendrum podrosoi*, *Blastomyces dermatitidis*, *Cryptococcus neoformans*, *Nocardia brasiliensis* (of the micetoma abdomen, of the thorax and musculature), *Nocardia asteroides*. Cupric complexes of the following sulfas were added: Thiazol, Phtalyl-Thiazol, Succinyl-Thiazol, Acethyl-Sulfanyl amid, Meracin, Methyl-Thiazol, Diacin, Piridin, Sulfanyl amid in proportion of 1:2,000; 1:5,000; 1:10,000; 1:20,000; 1:50,000; 1:100,000, and 1:150,000. L. F. BOJALIL J. determined inhibition by means of the technique of A. GONZALEZ OCHOA Y ZOZAYA J. (The square of the diameter of the colonies is graphically represented as the ordinate, and the days of observation as the abscissa.)

*Candida albicans*, *Epidermophyton floccosum*, and *Cryptococcus neoformans* do not inhibit in the greatest concentration. *Blastomyces dermatitidis* inhibition with all complexes at 1:2,000, with Sulphamericin also at 1:5,000.—*Hormodendrum podrosoi*: with Sulfanyl-amid inhibition in dilution of 1:10,000, with Diacin, Piridin, and Thiazol in 1:5,000, with the others not even in 1:2,000.—*Nocardia brasiliensis*: inhibition with Thiazol 1:150,000, Meracin 1:50,000; with the rest—except Succinyl-Thiazol and Acethylsulfanyl amid complex—in concentrations of 1:20,000.—*Nocardia asteroides* is far more resistent: with Thiazol 1:100,000 inhibition has not been observed. Upon control with CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O and sulfas with ethylenediamine corresponding to the highest concentration used (1:2,000=Cu 1:15,000—25,000) there was no noticeable inhibition in any of the fungi employed.

#### Veränderungen der Retikulozytenzahl in unmittelbarem Anschluß an experimentell erzeugten Sauerstoffmangel<sup>1</sup>

Eine Verminderung der Sauerstoffsättigung im arteriellen Blut übt einen starken Reiz auf die blutbildenden Organe aus. Dies hat seinerzeit MIESCHER<sup>2</sup> und seine Schule nachgewiesen. Aber die physiologischen Reize sind verschiedener Art. Der Natur der «Hämato-poietine», deren Begriff seinerzeit von CARNOT und DEFLANDRE<sup>3</sup> aufgestellt wurde, werden bis in jüngster Zeit sorgfältige Untersuchungen gewidmet, unter denen diejenigen von v. BONNSDORF und JALAVISTO<sup>4</sup> erwähnt sein mögen.

Falls die erythropoietische Funktion des Knochenmarks nicht durch andere Einflüsse gestört wird, gibt sich seine erhöhte Tätigkeit durch eine Steigerung der Anzahl Retikulozyten im peripheren Blut zu erkennen. Dies tritt u. a. auf bei Übergang aus dem Tiefland in ein Höhenklima. Die Retikulozytose erreicht dabei gewöhnlich ihren höchsten Wert 3–7 Tage nach der Veränderung der Atmungsbedingungen. Aber auch in unmittelbarem Anschluß an gewisse Eingriffe (Ventrikulographie, Subokzipitalpunktion) und im Zusammenhang mit stark ermüdenden körperlichen Anstrengungen ist eine kurzdauernde, bedeutende Vermehrung der Retikulozyten nachgewiesen worden. Es wird allerdings behauptet, daß eine derartige Retikulozytenuausschwemmung, wenn von kurzer Dauer und ohne gleichzeitig nachweisliche Linksverschiebung, ausschließlich eine Emission bereitstehender reifer Zellen sein soll, und deshalb nicht als ein Zeichen einer erhöhten Markfunktion aufgefaßt werden kann.

Für die nachfolgenden Hypoxie- und Ergometrie-Versuche ist ein modifiziertes Knippingsches Spirometer verwendet worden; Analyse der Luft im geschlossenen System vor und nach dem Versuch mit dem Haldaneschen Apparat. Die Arbeit wurde mittels Kurbeln ausgeführt und das Resultat direkt in Watt abgelesen<sup>5</sup>. Die Blutuntersuchungen wurden unmittelbar vor dem Versuch, sowie während der 2 darauffolgenden Stunden vorgenommen. Im Laufe des Hypoxie-versuches wurde außerdem das Blut nach 10 Minuten und nach 20 Minuten, vor Entfernung der Maske, untersucht. Nach der Ergometrie fanden die ersten Untersuchungen nach 10 Minuten statt. (Zählung der Erythrozyten, Färbung der Retikulozyten mit Brillantkresylblau; Nachfärbung mit Giemsa. Die Anzahl Retikulozyten auf wenigstens 2000 Erythrozyten gerechnet; Resultat pro Mille und in Gesamtanzahl pro mm<sup>3</sup> angegeben.)

Hypoxieversuche von kurzer Dauer wurden 8mal an 7 Versuchspersonen vorgenommen. In 3 Fällen dauerte der Versuch 20 Minuten; Sauerstoffgehalt der einzuatmenden Luft zwischen 11,5 und 13,0%. In 3 Fällen, Versuchsdauer 10 Minuten, Sauerstoffkonzentration zwischen 9,3% und 11,0%. In 1 letzten Fall wurde der Hypoxie-versuch wegen Kollapsymptomen nach 4 Minuten unterbrochen. Sauerstoffgehalt im System 8%.

<sup>1</sup> Die Untersuchungen sind von der «Roche»-Studien-Stiftung unterstützt worden.

<sup>2</sup> F. MIESCHER, *Gesammelte histochemische und physiologische Arbeiten* (Leipzig 1897).

<sup>3</sup> P. CARNOT und C. DEFLANDRE, C. r. Acad. Sci. 143 (1906).

<sup>4</sup> B. V. BONNSDORF und E. JALAVISTO, Acta physiol. Scand. 16, 150 (1948).

<sup>5</sup> Betr. Beschreibung des Spirometers und Ergometers s. Arbeiten von ED. JÉQUIER-DOGE und M. LOB, Rev. méd. Suisse romande 60, 540 (1940); J. méd. Leysin, Nr. 7 (1943); Sem. Hôp. Paris, Nr. 25 (1946); J. suisse Méd., Nr. 13 et 14 (1945); Helv. med. acta, im Druck (1950).