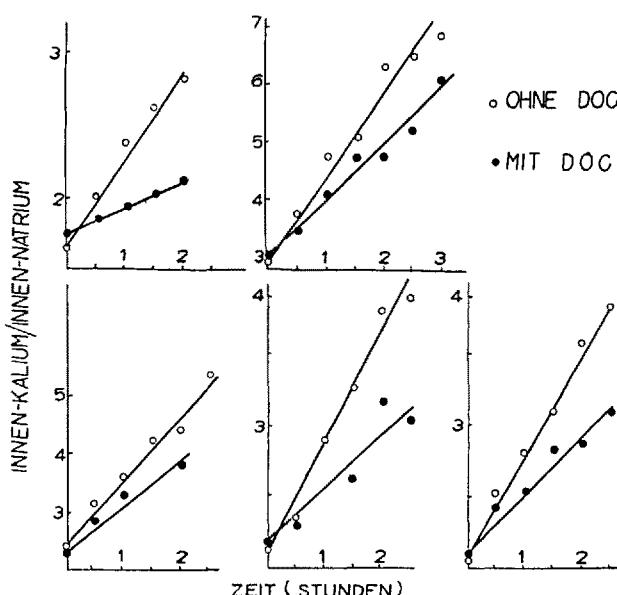


noch 0,616/h. In der Abbildung sind diese fünf Versuche zusammengestellt, in denen jedesmal das Blut der gleichen Ratte mit und ohne DOC untersucht wurde. Der Unterschied der Steigung der Geraden mit und ohne DOC ist bei der gegebenen Zahl von Versuchen und Messpunkten statistisch gut gesichert (er entspricht einer Zufallswahrscheinlichkeit von weniger als 0,001).



Änderung des Verhältnisses aus Kalium- und Natriumkonzentration in den Blutzellen von normalen Ratten, während der Inkubation bei 37°C, mit und ohne Zusatz von 1 mg/ml Desoxycorticosteron.

Zur Prüfung, ob an Zellen von nebenniereninsuffizienten Ratten die DOC-Wirkung noch deutlicher sei, wurden 6 gleiche Versuche mit Blut von 3 einseitig und 3 beidseitig adrenalektomierten Ratten gemacht. Die Tiere wurden 30–130 Tage nach der Operation getötet, nachdem sie mit einer von LASZT<sup>1</sup> angegebenen Na-reichen Kost gut überlebten. Ein Unterschied der DOC-Wirkung gegenüber normalen konnte nicht statistisch gesichert werden. Dagegen stellte es sich heraus, dass die Entfernung der Nebenniere unerwarteterweise im gleichen Sinne wirkt wie DOC-Zusatz zum Blut normaler Tiere: die Änderung von  $Q$  betrug im Mittel bei adrenalektomierten Tieren 0,799/h, was gegenüber dem Wert 1,022/h der normalen Tiere statistisch schwach gesichert ist ( $P = 0,05$ ).

An menschlichen Blutzellen konnten wir bisher eine In-vitro-Wirkung von DOC nicht feststellen.

Die *in vitro* beobachtbare Bremsung des Kationenaustausches durch DOC an Kältereerythrozyten demonstriert für dieses Nebennierensteroid eine Wirkung auf die Na-K-Pumpe im Sinn einer Hemmung. Es ist in diesem Zusammenhang interessant, dass CONWAY<sup>2</sup> an Natrium reichgemachten Hefezellen eine DOCA-Wirkung auf den Kationenaustausch beobachtet hat. Wo das Hormon angreift, ist nicht abgeklärt. Prinzipiell stehen drei Möglichkeiten offen: 1. Behinderung des Trägermechanismus (entsprechend der Vorstellung, dass Kalium- und Natriumionen an ein organisches Molekül komplexartig gebunden durch die Zellwand transportiert werden (SOLOMON<sup>3</sup>). 2. Ein Eingriff in die

energieliefernden Vorgänge (der Transport geht für beide Ionenarten gegen den elektrochemischen Gradienten und ist damit ein endergonischer Vorgang. Nach MAIZELS<sup>1</sup> bestehen Gründe zur Annahme, dass die nötige Energie bei den kernlosen Erythrozyten aus der Glykolyse abgeleitet wird). 3. Begünstigung des passiven Kaliumaustritts und Natriumeintritts, der während des aktiven Transports (an anderen Stellen der Membran) weitergeht. Orientierende Versuche zeigten uns, dass tatsächlich DOC den passiven Na-Eintritt in der Kälte beschleunigt.

H. J. SCHATZMANN

*Pharmakologisches Institut der Universität Bern,  
29. Dezember 1953.*

#### Summary

Cold-stored blood cells of rats, which were depleted of potassium and had gained an equivalent amount of sodium instead, were incubated with 500 mg % glucose at 37°C in serum. Under these conditions an extrusion of sodium from and a re-entry of potassium into the cells could be observed. Desoxycorticosterone, when added in a concentration of 1 mg per ml, was able to slow down the rate of this exchange to three fifths of the rate of untreated cells. With blood of adrenalectomised rats, the same effect of DOC was observed, although the rate without DOC was somewhat lower than in the blood of normal animals. There was no statistically significant difference between the DOC-effect in blood of normal and adrenalectomised rats.

<sup>1</sup> M. MAIZELS, J. Physiol. 112, 59 (1951).

#### PRO EXPERIMENTIS

#### Über das komplexchemische Verhalten von aromatischen Karbonsäurehydraziden

##### Metallionen und biologische Wirkung<sup>1</sup>

Verschiedene Beobachtungen sprechen dafür, dass den in zahlreichen Fermenten nachgewiesenen Metallionen für den an vielen Beispielen untersuchten Antagonismus zwischen Substrat und substratähnlichen Verbindungen eine Bedeutung zukommt<sup>2</sup>.

Kenntnisse über das Vermögen von Metallionen, basische Partikel komplex zu binden, erhalten durch diese Beziehung grösere Bedeutung. In der Reihe der das Wachstum von Tbc-Kulturen beeinflussenden Verbindungen besitzen die Hydrazide aromatischer Karbonsäuren ein besonderes Interesse. Es hat sich gezeigt, dass es in dieser Verbindungsreihe zwei Typen gibt. Zum ersten Typus, der das Wachstum von  $H_37R_v$ -Tbc-Kulturen hemmt, gehören das INH und das Thiazol-2-karbonsäurehydrazid; Verbindungen vom zweiten Typus zeigen keine wachstumshemmende Wirkung gegenüber Kulturen von  $H_37R_v$  und haben im Gegenteil sogar die Eigenschaft, die hemmende Wirkung, zum Beispiel des INH, in gewissen Konzentrationsbereichen aufzuheben. Dahin gehören Benzhydrazid und Thiophen-2-karbonsäure-

<sup>1</sup> L. LASZT, Verh. Ver. schweiz. Physiol. Februar 1939.

<sup>2</sup> E. J. CONWAY, Symp. on active transport, Soc. exp. Biol. 1953.

<sup>3</sup> A. K. SOLOMON, J. gen. Physiol. 36, 57 (1952).

<sup>1</sup> 21. Mitteilung.—20. Mitteilung siehe: H. SEILER, MARGRIT SCHUSTER und H. ERLENMEYER, Helv. chim. Acta 37, 239 (1954).

<sup>2</sup> H. ERLENMEYER, J. BÄUMLER und W. ROTH, Helv. chim. Acta 36, 941 (1953).

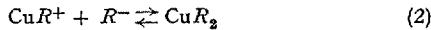
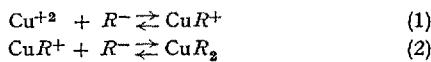
hydrazid. Es hat sich weiterhin zeigen lassen, dass  $\text{Cu}^{+2}$  diesen Antagonismus zwischen zwei Hydraziden aufzuheben vermag<sup>1</sup>.

Wir unternahmen es deshalb, zu untersuchen, ob sich diese Zweiteilung im komplexchemischen Verhalten dieser Verbindungen wieder finden lässt.

Früher wurde bereits gezeigt, dass INH  $\text{Cu}^{+2}$  komplex zu binden vermag<sup>2</sup>. Um die anderen angeführten biologisch geprüften Hydrazide komplexchemisch vergleichen zu können, war es von Interesse, das Verhalten dieser Verbindungen gegenüber  $\text{Cu}^{+2}$  zu untersuchen.

Bei einer solchen Gegenüberstellung von in biologischen Versuchen gefundenen Aktivitäten mit dem durch physikalisch-chemische Messungen ermittelten Vermögen,  $\text{Cu}^{+2}$  komplex zu binden, ist auf die folgenden wichtigen Bedingungen zu achten:

1. Die Mehrzahl der in Frage kommenden Agentien vom Typus RH (wobei RH eine Säure oder Pseudosäure bedeutet) kann mit  $\text{Cu}^{+2}$  in zwei Stufen, denen die Stabilitätskonstanten  $k_1$  und  $k_2$  zugeordnet sind, reagieren.



$$\frac{|\text{CuR}^+|}{|\text{Cu}^{+2}| \cdot |R^-|} = k_1 \quad (3) \quad \frac{|\text{CuR}_2|}{|\text{CuR}^+| \cdot |R^-|} = k_2 \quad (4)$$

$$\frac{|R^-| \cdot |\text{H}^+|}{|RH|} = k_s \quad (5)$$

Reaktionsstufe (1) beschreibt den für das biologische Geschehen bedeutsamen Vorgang. Eine überschlagsmässige Rechnung zeigt, dass bei der total hemmenden Grenzkonzentration des INH  $|RH| = 10^{-6}$ ,  $k_2 = 10^6$ ,  $\text{pH} = 7$  und  $k_S = 10^{-10}$  das Verhältnis  $|\text{CuR}_2| / |\text{CuR}^+| = 10^{-8}$  wird, dass also praktisch nur der 1:1-Komplex vorliegen kann.

2. Die Grösse, die das Vermögen von RH,  $\text{Cu}^{+2}$  zu binden, charakterisiert, und die dann mit der biologischen Aktivität zu vergleichen von Interesse ist, soll bei gegebenem pH und  $|RH|$  ein direktes Mass für die Menge des gebundenen  $\text{Cu}^{+2}$  darstellen. Als solches ist die konventionelle Komplexbildungskonstante  $k_1$  (3) ungeeignet, da sie  $|R^-|$  als Faktor enthält, der seinerseits wieder vom pH und von  $k_S$  abhängig ist. Wir schlagen als ein für solche Vergleiche geeignetes Mass  $k_1^*$  =  $k_1 \cdot k_S$  vor.

Bei der von uns benutzten Bestimmungsmethode von  $k_1^*$ , bei der auf Berücksichtigung der Aktivitätskoeffizienten der an den Gleichgewichten beteiligten Ionen verzichtet wurde, und die demnach nur die Größenordnung von  $k_1^*$  ergibt, bedienen wir uns der durch Chelatbindung hervorgerufenen pH-Erniedrigung. Es wurde das pH' von Mischungen von  $\text{Cu}^{+2}$  und RH potentiometrisch gemessen und dann die Menge  $\Delta\text{H}^+$  der gebundenen  $\text{Cu}^{+2}$  durch Einstellung des gleichen Volumens RH mit 0,01 n-HCl auf das gleiche pH' gemessen. Unter Benützung von (3), (4) und (5) lässt sich dann eine einfache Näherungsrechnung durchführen. Für  $\Delta\text{H}^+ / \text{Cu}^{+2}_{\text{ges}} < 0,5$  kann unter der Annahme eines Spreizungsfaktors  $x \geq 10$  die Bildung von  $\text{CuR}_2$  vernachlässigt werden. Aus den gemessenen pH' und  $\Delta\text{H}^+$  ergibt sich für  $k_1^*$  die Formel (6)

$$\frac{|\Delta\text{H}^+|}{|\text{Cu}^{+2}|} = \frac{|RH|}{|\text{H}^+|} k_1^*. \quad (6)$$

<sup>1</sup> W. ROTH, G. CARRARA und H. ERLENMEYER, Helv. chim. Acta 36, 1004 (1953). – W. ROTH und H. ERLENMEYER, Helv. chim. Acta 37, 95 (1954).

<sup>2</sup> S. FALLAB und H. ERLENMEYER, Exper. 8, 298 (1952). – S. FALLAB und H. ERLENMEYER, Helv. chim. Acta 36, 6 (1953). – A. ALBERT, Exper. 9, 370 (1953).

<sup>3</sup> A. ALBERT, Exper. 9, 370 (1953).

Für  $\Delta\text{H}^+ / \text{Cu}^{+2}_{\text{ges}} > 1$  wird  $|\text{Cu}^{+2}|$  praktisch zu Null, und es kann analog  $k_2^*$  berechnet werden.

Die Messungen wurden an Lösungen, die RH in Konzentrationen zwischen  $10^{-2}$  und  $10^{-3}$  und 0,1 bis 0,5 Äquivalente  $\text{Cu}^{+2}$  enthalten, vorgenommen. Als Beleg für die Brauchbarkeit der Methode sei die Bestimmung der Stabilitätskonstanten der Cu-Komplexe des Alanins und des Salizylaldehyds angeführt (Tabelle I).

Tabelle I

	$\log k_1^*$	$pK_S$	$\log k_1$	$\log k_1$ (Literaturwert)
Alanin . . . . .	-1,5	9,91	8,4	8,4; 8,51
Salizylaldehyd . . .	-2,6	9,5 <sup>2</sup>	6,9	7,4 <sup>2</sup>

Wir haben alsdann  $k_1^*$  für die erwähnten Hydrazide grössenordnungsmässig mit der angegebenen Methode bestimmt und die in Tabelle II wiedergegebenen Werte ermittelt.

Tabelle II

	$\log k_1^*$	$\log k_1$
Benzhydrazid . . . . .	-4,2	
Thiophen-2-karbonsäurehydrazid	-3,6	
INH . . . . .	-3,0	
Thiazol-2-karbonsäurehydrazid . . .	-0,8	7,8 <sup>3</sup>

Es muss darauf hingewiesen werden, dass  $k_1^*$  bei den Hydraziden nicht ganz konzentrationsunabhängig ist. Der Fehler kann auf gleichzeitige Bildung eines Ion-Dipolkomplexes, der sich insbesondere in konzentrierteren Lösungen bildet<sup>4</sup>, zurückgeführt werden; oder die Bildung des  $R^-$  folgt nicht der einfachen Form der Massenwirkung (5).

$$\frac{|R^-| \cdot |\text{H}^+|}{|RH|} = k_S \quad (5)$$

Bei den potentiometrischen Messungen, für deren Ausführung wir Fräulein PIA SPAETI unseren Dank aussprechen möchten, bedienen wir uns eines Beckman-pH-Meters, Modell G. Sämtliche Messungen wurden bei 20° vorgenommen.

Herrn Prof. H. ERLENMEYER danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit.

S. FALLAB

Anstalt für anorganische Chemie der Universität Basel,  
den 16. Januar 1954.

### Summary

A simple method to evaluate rough values of complex-formation constants has been developed. We have determined  $k_1^*$ -values for  $\text{Cu}^{+2}$  and aromatic hydrazides.  $k_1^*$  is suitable for comparison with biological results.

<sup>1</sup> A. E. MARTELL und M. CALVIN, *Chemistry of the Metal Chelate Compounds* (Prentice Hall, Inc., New York 1952), S. 526.

<sup>2</sup> A. E. MARTELL und M. CALVIN, a.a.O., S. 546. Die Konstante wurde in 50% Dioxan- $\text{H}_2\text{O}$  ermittelt.

<sup>3</sup> A. ALBERT, Exper. 9, 370 (1953), fand  $\log k_1 = 8,0$ .

<sup>4</sup> INH bildet mit  $\text{Cu}^{+2}$  einen Festkörper vom Typus  $\text{RCuHSO}_4$ ; E. SORKIN, W. ROTH und H. ERLENMEYER, Helv. chim. Acta 35, 1738 (1952), während Benzhydrazid einen reinen Dipolkomplex vom Typus  $(\text{RH})_2\text{CuSO}_4$  bildet: Soc. 1929, 1945. Genauere spektrophotometrische Untersuchungen über die Vorgänge in Lösung sind im Gange.