



ohne Chinon auch nach 10 min nicht gross (d)⁴. DPN fällt schon nach 2 1/2 min (auch ohne Glukose) stark ab.

In glykolysierenden Ansätzen kommt es zu einer starken Anhäufung von HDP (um das Zehnfache) und Triosephosphaten (um das Vier- bis Fünffache), während G-6-P nur verdoppelt wird. Gleichzeitig verschwindet das anorganische Phosphat zu 80%.

Das Absinken des DPN bei allen Versuchen lässt vermuten, dass hier der Angriff des Chinons erfolgt. In glykolysierenden Zellen wird die Reaktionskette durch den DPN-Mangel auf der Stufe der Glycerinaldehydphosphatdehydrierung gebremst. Da jedoch die phosphorylierenden Reaktionen der Glykolyse (Hexokinase- und Phosphofruktokinase-Reaktion) nicht oder nur wenig gehemmt sind, wird ein grosser Teil des anorganischen Phosphates und das endständige Phosphat von ATP in den Hexose- und Triosephosphaten festgelegt. Ausserdem wird auch vom ADP über eine Myokinase-Reaktion Phosphat an die Glykolyse abgegeben. Hierfür spricht, dass die ADP-Erhöhung nach längerer Inkubation wieder zurückgeht (Abb. 2, c).

Mit diesem Mechanismus steht in Übereinstimmung, dass in nicht glykolysierenden Zellen nur ein geringer ATP-Abfall beobachtet wird und die ADP-Konzentration nicht ansteigt (Abb. 2, b). In glykolysierenden Zellen kann die oben beschriebene Atmungssteigerung durch die Erhöhung der ADP-Konzentration erklärt werden, da ADP nach CHANCE⁶ die Atmungskontrolle ausübt.

In intakten Zellen wird Phenanthrenchinon offenbar über einen anderen Mechanismus wirksam als Menadion (2-Methyl-1,4-Naphthochinon) in Homogenaten bei Überschuss von DPN. Bei Versuchen mit Homogenaten wurden die Enzyme Hexokinase und Phosphohexokinase am stärksten gehemmt^{1,6}. Von HOLZER *et al.*⁷ konnte die Hemmwirkung von Äthyleniminochinonen ebenfalls mit einer DPN-Abnahme in Zusammenhang gebracht werden.

Bei Gefässpaarversuchen mit *Ascites*serum als Inkubationsmedium zeigte sich Phenanthrenchinon und auch der Bisglycylester im Gegensatz zum Menadion ebenso wirksam wie in Ringer-Bikarbonat-Lösung. Anscheinend tritt die allgemeine Reaktion mit Proteinen (Oxydation von SH-Gruppen, Anlagerung) gegenüber der spezifischen Reaktion auf den Stoffwechsel zurück. Da die Chinone in den Zellen akkumuliert werden, hängt die Hemmwirkung aber von der Zellkonzentration im Versuchsansatz ab.

Da unter physiologischen Verhältnissen, wie WARBURG⁸ erstmalig fand, nur Tumorzellen (und Netzhaut) stark glykolysieren, könnte auf Grund des dargelegten Mechanismus eventuell eine gewisse Selektivität für Tumorzellen vorhanden sein. Doch hängt diese natürlich noch von anderen Faktoren wie der Verteilung im Organismus und der Aufnahmegeschwindigkeit in die verschiedenen Zellarten ab. Eine chemotherapeutische Wirkung von Phenanthrenchinon auf Mäusetumoren wurde von POWELL⁹ sowie von LEITER *et al.*¹⁰ beobachtet. LEHMANN¹¹ fand bei Tubifex-Eiern eine sehr starke antimittotische Wirksamkeit.

Der bisher noch nicht dargestellte Bisglycylester wurde durch Umsetzung von Phenanthrenhydrochinon (9,10) mit Carboxybenzyl (CBZ)-glycylchlorid und Abspaltung des CBZ-Restes mit 1 *n* HBr in Eisessig dargestellt.

Die mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgesellschaft ausgeführten Untersuchungen werden fortgesetzt.

H. TIEDEMANN und H. J. RISSE

Heiligenberg-Institut (Abt. O. Mangold) und Chemisches Laboratorium der Universität Freiburg i. Br., 12. Januar 1960.

Summary

Phenanthrenchinon (9,10) and hydrochinon-bis-glycyl-ester prepared as water-soluble 'transportform', are strong inhibitors of glycolysis. Glycolysing cells are depleted from ATP in a few minutes.

⁴ Inwieweit durch Phenanthrenchinon die oxydative Phosphorylierung entkoppelt wird, bedarf weiterer Untersuchungen.

⁵ B. CHANCE, Int. Symp. Enz. Chemistry, Tokyo (1957), p. 9.

⁶ O. MEYERHOF und L. O. RANDALL, Arch. Biochem. 17, 171 (1948).

⁷ H. HOLZER, P. GLOGNER und G. SEDLMAYER, Biochem. Z. 330, 59 (1958).

⁸ O. WARBURG, Über den Stoffwechsel der Tumoren (Berlin 1926).

⁹ A. K. POWELL, Brit. J. Cancer 5, 264 (1951).

¹⁰ J. LEITER, J. L. HARTWELL, J. S. KAHLER, I. KLINE und M. J. SHEAR, J. nat. Cancer Inst. 14, 365 (1953).

¹¹ F. E. LEHMANN, Exper. 3, 223 (1947). – Schweiz. Z. Path. Bakt. 14, 487 (1951).

Effect of the Glucagon on the Plasma Insulin-Activity after Hypophysectomy

It is unquestionable that the hypophysis plays an important part as regards the insulenic effect of plasma. RANDLE¹ has pointed out the existence of very high values for the insulenic effect of the plasma in acromegaly, and CANDELA *et al.*² and other authors have confirmed this. On the other hand, RANDLE and YOUNG³ have demonstrated that the plasma of hypophysectomized rats does not show any insulenic effects; and RANDLE⁴ has observed that the insulenic effect of the plasma is very low in cases of hypopituitarism (human).

The experiments reported here were aimed at ascertaining whether the disappearance of the insulenic effect of the plasma has a constant course, in alloxan and pancreatectomized diabetes, and whether the treatment with glucagon has some influence on the disappearance of the plasma insulin effect following hypophysectomy.

Methods. The plasma insulin effect is determined in the following cases:

1. Normal rats (both sexes). 2. Alloxan diabetes. 3. Pancreatectomized diabetes. 4. Hypophysectomized rats. 5. Hypophysectomized rats treated with glucagon.

¹ P. J. RANDLE, Lancet 1954, 441.

² J. L. R-CANDELA, Y. VALLADARES, and R. R-CANDELA, Rev. esp. Enf. del Aparato Dig. y de la Nutr. 15, 48 (1956).

³ P. J. RANDLE and F. G. YOUNG, J. Endocrin. 13, 335 (1956).

⁴ P. J. RANDLE, Lancet 1954, 809.

Table 1. Plasma Insulin Effect in Normal Rats

	Mean	σ	t	P	No. exp.
with cystein	0.435	0.057	8.950	< 0.01	6
without cystein	0.625	0.032			

The plasma treated with cystein, to destroy insulin, induces to a lower consumption of glucose by the diaphragm. The difference between the consumption induced by the native plasma and treated plasma, is the insulinic effect, expressed here in mg of glucose consumed per 100 mg of diaphragm during 1 h incubation in Warburg apparatus. Statistically, the result is significant.

Table 2. Plasma Insulin Effect in Alloxan Diabetes

	Mean	σ	t	P	No. exp.
with cystein	0.470	0.050	1.453	0.1 < P < 0.2	10
without cystein	0.505	0.038			

Once the Langerhans islets are destroyed (B cells only), the insulinic effect of the plasma disappears. The small difference between the effect of both plasmas is not significant from a statistical standpoint.

Table 3. Plasma Insulin Effect in Pancreoprive Diabetes

	Mean	σ	t	P	No. exp.
with cystein	0.571	0.047	0.967	0.3 < P < 0.4	9
without cystein	0.600	0.068			

As is logical, there is no insulinic effect of the plasma. The slight difference in the effect between both plasma is not statistically significant.

Table 4. Plasma Insulin Effect After Hypophysectomy

	Mean	σ	t	P	No. exp.
with cystein	0.468	0.033	0.857	0.4 < P < 0.5	7
without cystein	0.486	0.037			

The consumption of glucose induced by the plasma, either treated or untreated with cystein, is the same in both cases. The plasma of the hypophysectomized rat has no insulinic effect.

Table 5. Plasma Insulin Effect in Hypophysectomized Rat Treated with Glucagon

	Mean	σ	t	P	No. exp.
with cystein	0.472	0.127	2.128	$P = < 0.05$	9
without cystein	0.638	0.141			

The insulinic effect which disappeared on hypophysectomy, reappears again.

Full-grown rats of both sexes have been utilized (140 to 180 g), coming from our own stock and fed with a 'standard' diet. The alloxan diabetes, pancreatectomy, and hypophysectomy were carried out by the methods described in previous works⁵. The evaluation of insulin in the plasma was carried out by the technique already described¹, modified in that only 0.1 cm³ of plasma were

utilized instead of 1 cm³ as described in the first of our works. The insulinic effect of the plasma is expressed by the difference in glucose uptake induced by the addition of normal plasma and treated with cystein. In hypophysectomized rats treated with glucagon, 0.5 mg of this hormone dissolved in Bayol-F were used. Two subcutaneous injections were made, the second one three days after the first. The animals were sacrificed three days after the second injection. The absence of hypophysis was always ascertained after the sacrifice of the animal.

Discussion. The disappearance of the insulinic effect of the plasma after the removing of the pancreas or the alloxan diabetes, does not logically require any comment. However, the reason why in acromegaly (RANDLE, CANDELA, VALLADARES, and CANDELA) the insulinic activity in the plasma is very high and disappears with hypophysectomy, has not been explained. RANDLE and YOUNG have also observed that if hypophysectomized animals are submitted to an early treatment with hormones for growth, the insulinic effect does not disappear. The fact that by treatment with glucagon, the insulinic effect of the plasma is maintained within the normal range has undoubted interest, among other reasons because it would suggest that its secretion is governed (stimulated) by the pituitary gland as was presumed by BORNSTEIN⁶.

R. R-CANDELA

*Instituto de Metabolismo y Nutrición, Madrid (Spain),
December 24, 1959.*

Résumé

La disparition de l'effet insulinique du plasma que l'on observe après l'hypophysectomie n'a pas lieu quand les animaux (rats) ont été préalablement soumis à un traitement de glucagon (0,5 mg suspendu en Bayol F).

⁵ I thank Dr. P. M. GONZ for the carrying out of the pancreatectomies and hypophysectomies.

⁶ J. BORNSTEIN, Personal communication to J. L. R-CANDELA.

Beeinflussung der Bromsulphalein-Clearance durch Sulfonamide beim Kaninchen

Bromsulphalein (BSP) gehört zusammen mit Bilirubin, Fluoreszein u. a. zu einer Gruppe von Substanzen, welche in bezug auf ihr Verhalten im Blut und in der Leber mehrere gemeinsame Züge aufweisen. Eine dieser Eigenschaften ist die Neigung, mit den Bluteiweissen Komplexe zu bilden, und es darf vermutet werden, dass diese Bindung nicht nur für den Transport dieser Farbstoffe, sondern auch für den Aufnahmemechanismus in der Leber irgendwie von Bedeutung ist. Auch Sulfonamide finden sich im Blut zum Teil an Eiweiss gebunden, wobei sie Bilirubin von der Bindungsstelle zu verdrängen scheinen^{1,2}. In diesem Zusammenhang interessiert die Frage, ob Sulfonamide die BSP-Clearance beeinflussen würden.

Methodik: Injektion von 5 mg/kg BSP intravenös, anschliessend Infusion von 0,5 bzw. 0,75 mg/kg/min BSP intravenös an 2 bis 3 kg schwere Kaninchen während etwa

¹ G. B. ODELL, J. clin. Invest. 38, 823 (1959).

² G. B. ODELL, J. Pediat. 55, 268 (1959).