

## Untersuchungen über bakteriostatische Chinone und andere Antibiotica.

X. Mitteilung: Studien über das Verhalten pflanzlicher Zellen gegenüber Chinonen.

Von

**O. Hoffmann-Ostenhof und Else Kriz.**

Aus dem I. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

(Eingelangt am 12. Febr. 1948. Vorgelegt in der Sitzung am 19. Febr. 1948.)

In einer vor kurzem erschienenen Mitteilung berichten *Gäumann, Jaag* und *Braun*<sup>1</sup> über Modellversuche zur Charakterisierung der Wirkungen der Antibiotica Patulin und Lykomarasmin. In dieser Arbeit beschreiben die Autoren u. a. Untersuchungen über die Wirkung dieser Antibiotica auf die Plasmahaut und die Vakuolenwand von Gewebe der Roten Rübe (*Beta vulgaris rubra*). Die Tatsache, daß dieses Gewebe unter dem Einfluß verdünnter Lösungen von Patulin (nicht aber Lykomarasmin) bei 0° diese Lösungen rot färbt, während bei Zugabe von Wasser unter gleichartigen Bedingungen kein Austritt des in der Zellvakuole befindlichen Anthocyans stattfindet, bestimmen *Gäumann* und Mitarbeiter zu dem Schluß, daß Patulin imstande sei, die Vakuolenwand und die Plasmahaut derartig zu schädigen, daß sie für bestimmte Vakuoleninhaltsstoffe durchlässig werden. Die Autoren sprechen in diesem Zusammenhang von einer Zerstörung der Semipermeabilität der Plasmagrenzschichten. Die Schweizer Forscher vermeiden allerdings die Schlußfolgerung, daß diese oder eine ähnliche schädigende Wirkung auf die Zelle die Ursache des antibiotischen Effekts des Patulins sei.

*Hotchkiss*,<sup>2</sup> der den Wirkungsmechanismus der seinerzeit von *Dubos* und *Hotchkiss*<sup>3</sup> aus der Kulturflüssigkeit des aeroben sporenbildenden

<sup>1</sup> Exper. **3**, 70 (1947).

<sup>2</sup> Adv. Enzymology **4**, 153 (1944); Currents in Biochemical Research, herausgegeben von *D. E. Green*, S. 379, New York 1946.

<sup>3</sup> J. Exptl. Med. **73**, 629 (1941).

*Bacillus brevis* isolierten Antibiotica Gramicidin und Tyrocidin näher untersucht hat, schreibt die Wirkungen des Tyrocidins, das Polypeptidnatur hat, der Oberflächenaktivität dieser Substanz zu. Tyrocidin sei imstande, die Zellmembranen derartig zu schädigen, daß wichtige Zellbestandteile, wie etwa Phosphorsäure und Aminosäuren, aus der Zelle hinausdiffundieren können. Mit Tyrocidin behandelte Zellen zeigen einen starken Abfall ihrer Atmungsgröße bis zu etwa 5 bis 10% des ursprünglichen Wertes. Dies ist unter Berücksichtigung der mitgeteilten Tatsachen unschwer verständlich. Durch die Ausschwemmung von Co-enzymen, Aktivatoren und Intermediärprodukten aus der Zelle erfolgt eine starke Verdünnung der aus vielen Komponenten zusammengesetzten Atmungssysteme.

Die Wirkungen einer Anzahl synthetisch dargestellter Substanzen auf Bakterien, so insbesondere aus der Gruppe der Kationenseifen,<sup>4</sup> sind nach Hotchkiss in ähnlicher Weise zu erklären.

In der vorliegenden Mitteilung soll nun über Versuche berichtet werden, die unternommen wurden, um festzustellen, ob die von uns untersuchten antibakteriellen Wirkstoffe aus der Gruppe der Chinone imstande sind, ähnliche Effekte gegenüber der Semipermeabilität von Zellmembranen zu verursachen.

### I. Versuche an Roten Rüben.

Wir hielten uns im wesentlichen an die von Gäumann und Mitarbeitern angegebenen Versuchsbedingungen:

2 ccm frischer Rüben wurden in Stücke von etwa  $10 \times 10 \times 2$  mm geschnitten und gut ausgewaschen. Hierauf wurden sie mit 25 ccm eisgekühlter Lösung des zu untersuchenden Wirkstoffs übergossen und 24 Stunden im Kühlschrank bei  $0^\circ$  aufbewahrt. Die Lösung färbte sich rosa bis rot. Die Menge des herausdiffundierten Anthocyans wurde auf kolorimetrischem Wege bestimmt. Als Vergleichslösung (100% Anthcyan) diente die Lösung des Farbstoffs, die man erhält, wenn man 2 ccm Rübe mit Seesand verreibt und über Nacht in 25 ccm Wasser bei Zimmertemperatur auslaugt. Analogversuche zu den von Gäumann durchgeführten Bestimmungen ergaben völlige Übereinstimmung.

Nachstehende Tabelle gibt in Prozenten die Menge des von den Rübenschitzeln an die Lösung abgegebenen Anthocyans an. Blindversuche mit reinem Wasser ergaben abgegebene Anthcyanmengen von 0,1%; dieser Blindwert ist von den in der Tabelle verzeichneten Werten bereits abgezogen.

<sup>4</sup> Vgl. hierzu etwa die Arbeiten von R. Kuhn und Mitarbeitern über Invertseifen: Ber. dtsch. chem. Ges. **73**, 1080 (1940) und folg. Mitteilungen.

Tabelle 1. Die unter Einwirkung von Chinonen aus Roten Rüben-Schnitzeln in 24 Std. bei 0° erhaltenen Mengen Anthocyan in Prozenten eines willkürlich gewählten Vergleichsstandards.

Substanz	Molare Konzentration des Wirkstoffs		
	$10^{-3}$	$10^{-4}$	höhere Verdünnung
Benzochinon . . . . .	0,30	0,15	
Toluchinon . . . . .	0,35	0,25	
p-Xylochinon . . . . .	0	0	
m-Xylochinon . . . . .	0	0	
Thymochinon . . . . .	0,20	0,05	
4-Methoxytoluchinon . . . . .	0,15	0,05	
Chlorbenzochinon . . . . .	0,35	0,20	
p-Dichlorchinon . . . . .	0	0	
m-Dichlorchinon . . . . .	—	0	
Trichlormethylchinon . . . . .	—	—	0,3 ( $3 \cdot 10^{-5}$ )
Dichlorthymochinon . . . . .	—	—	0,3 ( $5 \cdot 10^{-5}$ )
1,2-Naphthochinon . . . . .	—	—	0,1 ( $5 \cdot 10^{-5}$ )
2-Methylnaphthochinon . . . . .	0,35 ( $4,5 \cdot 10^{-4}$ )	0,25	
2-Oxy-3-chlornaphthochinon . . . . .	—	0,35	
2-Chlor-naphthochinon . . . . .	0,15 ( $3 \cdot 10^{-4}$ )	0,1	

Das einzige in  $10^{-2}$ -molarer Konzentration untersuchbare Chinon, das Benzochinon, ergab unter diesen Bedingungen 2,0%. Eine vergleichsweise Bestimmung des unter Einwirkung einer sogenannten Invertseife (Oktadecyl-dimethyl-benzyl-ammonium-chlorid) in  $10^{-3}$ -molarer Lösung bei gleichen Versuchsbedingungen ausgeschiedenen Anthocyans ergab den Wert von 6,75%.

Sämtliche Versuche wurden, wie erwähnt, bei 0° durchgeführt. Bei höheren Temperaturen ist die Wirkung der untersuchten Substanzen eine beträchtlich stärkere. Wir wollen dies hier am Beispiel des p-Xylochinons zeigen, das ja bei 0° keinen meßbaren Effekt auf die Semipermeabilität zeigt.

Tabelle 2. Die bei verschiedenen Temperaturen erhaltenen Anthocyanmengen bei Behandlung der Rübenschitzel mit Lösungen von p-Xylochinon. (In Prozenten des gleichen Standards wie bei Tabelle 1.)

Temperatur	Molare Konzentration des p-Xylochinons		
	$10^{-3}$	$10^{-4}$	0 (r. Wasser)
0°	0	0	0
10°	0	0	0
20°	0,25	0	0
30°	1,55	0,50	0
40°	3,25	2,47	0,57

Leider konnten Chinone aus der Klasse der Naphthazarine, die wegen ihrer starken antibiotischen Wirkungen interessant sind, nicht auf ihre Wirkung auf die Zellmembranen der Roten Rübe untersucht werden, da die Eigenfärbung der Lösung dieser Substanzen eine kolorimetrische Bestimmung des ausgeschiedenen Anthocyans unmöglich macht.

## II. Versuche über die Beeinflussung der Permeabilität der Hefezelle für Phosphationen.

Als zweiten Modellorganismus für die Untersuchung der Permeabilitätsverhältnisse durch Chinone wählten wir die Hefe. Nach einer Untersuchung von *M. Malm*<sup>5</sup> aus dem Laboratorium von *J. Runnström* nehmen frische Hefezellen immer, verarmte hingegen nur ab einer bestimmten Mindestkonzentration anorganische Phosphatlösungen aus der umgebenden Flüssigkeit auf. Bei niedrigerem pH soll die Hefe bedeutend mehr Phosphat absorbieren als bei höherem. Nach den Messungen von *Malm* handelt es sich hier um eine Diffusion gegen das Konzentrationsgefälle; *Malm* hat die Hefezellen auf ihren Phosphatgehalt untersucht und Konzentrationen von etwa  $4 \cdot 10^{-2}$ -M innerhalb der Zellen festgestellt. Diese Angabe erscheint uns allerdings deshalb zweifelhaft, weil der Autor die Phosphatbestimmung vermutlich nach der Methode von *Fiske* und *Subbarow* bestimmt hat; nach neueren Untersuchungen werden unter dem Einfluß der hierbei verwendeten Reagentien organische Phosphorsäureverbindungen, wie z. B. die sehr empfindlichen Acylphosphate, hydrolysiert und die abgespaltene Phosphorsäure scheint dann im Resultat beim anorganischen Phosphat auf. Es dürften also wahrscheinlich weitaus geringere Mengen anorganisches Phosphat in der Hefezelle zugegen sein, so daß man kaum von einer Diffusion gegen das Konzentrationsgefälle sprechen darf.

Wir haben nun die Versuche von *Malm* mit einer uns zur Verfügung stehenden Preßhefe (geliefert von den *Mautner-Markhoffschen* Preßhefefabriken, Wien XI) nachgearbeitet. Unsere Resultate stimmten größtenteils mit den von *Malm* erhaltenen überein; die Abweichungen lassen sich durch die verschiedene Provenienz der Preßhefe (*Malm* benützte eine Hefesorte der schwedischen Hefefabrik *Rotebro*) leicht erklären.

Wir arbeiteten nach der folgenden Methodik: 1,5 g Hefe wurde mit 5 ccm Flüssigkeit, die Phosphat und eventuell den zu untersuchenden Wirkstoff in den entsprechenden Konzentrationen enthielt, versetzt und 1 Stunde lang bei 30° im Thermostaten geschüttelt. Die Hefe wurde nun

<sup>5</sup> Naturwiss. 29, 318 (1941).

abzentrifugiert und die Phosphatbestimmung nach *Fiske* und *Subbarow* (in der Modifikation von *Theorell*<sup>6</sup> an einer abgemessenen Menge der überstehenden Flüssigkeit durchgeführt.

Ebenso wie *Malm* fanden wir, daß bei Versuchen ohne Wirkstoff das Eindringen von Phosphat in frische Hefe im gewählten Konzentrationsbereich von  $1,4 \cdot 10^{-2}$  bis  $7 \cdot 10^{-2}$ -M nicht von der Phosphatkonzentration der Außenlösung, dagegen aber stark vom  $p_{\text{H}}$  derselben abhängig ist. Bei  $p_{\text{H}} = 6,8$  wurden nur mehr zwei Drittel, bei  $p_{\text{H}} = 8$  gar nur mehr die Hälfte derjenigen Phosphatmenge von den Zellen aufgenommen, die wir bei  $p_{\text{H}} = 5,6$  feststellen konnten. *Malm* findet bei seinen Versuchen eine noch stärkere  $p_{\text{H}}$ -Abhängigkeit der Phosphataufnahme.

Bei Hefe, die durch 18stündiges Schütteln mit Wasser (1,5 g Hefe auf 50 ccm Wasser) an Inhaltsstoffen verarmt war, konnten wir in Übereinstimmung mit *Malm* eine gewisse Konzentrationsabhängigkeit der Phosphataufnahme feststellen; die  $p_{\text{H}}$ -Abhängigkeit ist hingegen die gleiche wie bei frischer Hefe. Verarmte Hefe nimmt im Durchschnitt etwa 40% weniger an Phosphat auf als frische Hefe.

Tabelle 3. Phosphataufnahme von 1,5 g  
Preßhefe in Prozenten der Phosphatkonzentration der Außenlösung.

Hefe $p_{\text{H}}$	molare Konzentration		
	$7 \cdot 10^{-2}$	$4,2 \cdot 10^{-2}$	$1,4 \cdot 10^{-2}$
frische Hefe	15,9	18,1	15,6
$p_{\text{H}} = 5,6$			
$p_{\text{H}} = 6,8$	9,1	10,5	12,4
$p_{\text{H}} = 8,0$	9,6	6,7	8,6
verarmte Hefe			
$p_{\text{H}} = 5,6$	11,3	9,7	9,1
$p_{\text{H}} = 6,8$	7,6	6,7	4,5
$p_{\text{H}} = 8,0$	8,8	6,7	1,1

Es konnte nun festgestellt werden, daß unter dem Einfluß einer Anzahl von Chinonen eine größere Menge von Orthophosphat von der Hefezelle aufgenommen wird als unter den vorher beschriebenen Bedingungen. Die beobachteten Effekte sind allerdings nicht sehr groß und liegen nahe der Fehlergrenze der Methodik; sie sind aber trotzdem recht gut reproduzierbar. In der folgenden Tabelle 4 sind die Daten dieser Versuchsreihe wiedergegeben.

<sup>6</sup> Biochem. Z. 230, 1 (1931).

Tabelle 4. Perzentuelle Vermehrung der Phosphataufnahme durch Preßhefe unter dem Einfluß von Chinonen.

Phosphatkonzentration:  $4,2 \cdot 10^{-2}$ , pH = 6,8, 30°.

Substanz	frische Hefe			verarmte Hefe		
	molare Konzentration			$4 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$
Benzochinon . . . . .	4,0	2,9	2,2	4,0	1,8	0
Toluchinon . . . . .	3,2	2,6	2,1	3,7	1,5	0
4-Methoxytoluchinon . . . . .	—	0	0	—	0	0
Chlorbenzochinon . . . . .	—	9,8	5,2	—	7,2	3,6
1,2-Naphthochinon . . . . .	8,2*	5,0	4,0	5,5*	4,5	2,0
2-Methylnaphthochinon . . . . .	—	—	1,7	—	—	1,0
2-Chlornaphthochinon . . . . .	—	—	5,0	—	—	3,0
2-Chlor-3-oxynaphthochinon . . . . .	—	9,5	6,9	—	8,0	4,9
Naphthazarin . . . . .	—	7,0	3,5	—	5,5	4,0

\*  $8 \cdot 10^{-4}$ .

Die pH-Abhängigkeit der Erhöhung der Phosphataufnahme ist in Tabelle 5 für den Fall des Benzochinons dargestellt.

Tabelle 5. Perzentuelle Vermehrung der Phosphataufnahme von Preßhefe unter dem Einfluß von verschiedenen molaren Lösungen bei verschiedenen pH-Werten.

pH	frische Hefe			verarmte Hefe		
	molare Konzentration			$4 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$
5,6	11,8	7,8	7,6	4,5	1,5	0
6,8	4,0	2,9	2,2	4,0	1,8	0
8,0	4,8	1,6	0	1,1	0	0

Unter Einwirkung der schon erwähnten Invertseife Oktadecyl-dimethyl-benzyl-ammoniumchlorid tritt interessanterweise der umgekehrte Effekt auf; die Hefe nimmt geringere Mengen an Phosphat auf als ohne Behandlung mit dem oberflächenaktiven Wirkstoff. So absorbierte die Preßhefe unter der Einwirkung von einer  $2 \cdot 10^{-3}$ -molaren Lösung dieser Invertseife 4,0% weniger Phosphat als in den Versuchen ohne Wirkstoff; eine Verringerung der Phosphataufnahme war auch noch bei einer  $4 \cdot 10^{-4}$ -molaren Lösung feststellbar. Bei diesen Versuchen war kein Unterschied in der Wirkung auf frische und auf verarmte Hefezellen zu beobachten.

Zur Erklärung der beobachteten Erscheinungen wurden weiters folgende Kontrollversuche durchgeführt: 1,5 g Hefe in 5 ccm Wasser bzw. Chinon- oder Invertseifenlösung wurden 1 Stunde ohne Phosphatzusatz bei 30° im Thermostaten geschüttelt; darnach wurde die Phosphatmenge bestimmt, die sich nach dieser Behandlung in der Außenlösung befand, also während des Versuchs von der Zelle abgegeben wurde. Weder reines Wasser noch Chinonlösungen verursachten ein Hinausdiffundieren des Phosphats aus der Zelle; nach der Behandlung mit Invertseife befanden sich hingegen messbare Mengen Phosphats in der Außenlösung und zwar bei Verwendung einer  $2 \cdot 10^{-3}$ -molaren Invertseifenlösung etwa 1 mg  $P_2O_5$  in 5 ccm, bei verdünnteren Lösungen entsprechend weniger. Bei Konzentrationen unter  $4 \cdot 10^{-4}$  molar ist ein derartiger Effekt nicht mehr feststellbar.

### III. Diskussion der Ergebnisse.

Die berichteten Resultate zeigen, daß Chinone wohl imstande sind die Semipermeabilität von pflanzlichen Zellen in einem gewissen Ausmaß zu beeinflussen. Wir haben hier über zwei grundlegend verschiedene Systeme berichtet, denn während wir bei dem Gewebe der Roten Rübe einfach die Fähigkeit der Zellmembranen Anthocyane an die Außenlösung abzugeben, bzw. die Unfähigkeit dieser Membranen unter dem Einfluß der angewandten Wirkstoffe das Anthocyan in der Zelle zurückzuhalten, untersucht haben, handelt es sich bei der Phosphataufnahme der Hefezelle um einen weit verwickelteren Prozeß.

Bei der Roten Rübe scheint es unzweifelhaft zu sein, daß die untersuchten Chinone und in viel stärkerem Maße die angewandte Invertseife auf die Zellwände bzw. Plasmahäutchen in dem Sinne wirken, daß eine strukturelle Veränderung stattfindet, die wahrscheinlich als Denaturierung von bestimmten Proteinen zu deuten ist. Die gerbende Wirkung der Chinone ist ja ebenso bekannt wie die denaturierende Wirkung der oberflächenaktiven Substanzen vom Typus der Invertseifen auf Eiweißstoffe. Dadurch wird die streng selektive Semipermeabilität der Zellmembranen geschädigt. Der Austritt des Anthocyanins aus den so behandelten Zellen ist also ein einfacher Diffusionsvorgang; die Anthocyaninkonzentration in der Außenlösung kann als Maß für die Diffusionsgeschwindigkeit aufgefaßt werden und letztere ist vom Grad der Gewebebeschädigung abhängig. Die Versuche zeigen, daß die Chinone qualitativ ebenso wie die Invertseife imstande sind, eine Schädigung der Zellwände (und wahrscheinlich auch der Plasmahäutchen) bei der Roten Rübe zu verursachen und zwar in einem weit höheren Maße als das Patulin, welches von *Gäumann*<sup>1</sup> auf diese Fähigkeit untersucht wurde.

Bedeutend schwieriger ist wohl die Deutung der bei den Versuchen über die Phosphataufnahme der Hefezellen erhaltenen Ergebnisse.

*Malm*<sup>5</sup> gibt in seiner kurzen Mitteilung keine ausreichende Erklärung für die von ihm beobachteten Phänomene; er kündigt eine solche für eine spätere Arbeit an, die aber in den seither erschienenen Veröffentlichungen des Autors nicht enthalten ist. Wir halten es deshalb für angezeigt, einen derartigen Erklärungsversuch vorauszuschicken.

Die Hefe braucht das Orthophosphat als Aktivator des Gärungsprozesses, des der Hefe eigenen und für ihre Lebensvorgänge erforderlichen Stoffwechselgeschehens. Sie ist imstande, aus dem anorganischen Phosphat eine energiereiche Phosphorsäurebindung herzustellen, die an Adenosindiphosphorsäure weitergegeben wird, wodurch Adenosintriphosphorsäure gebildet wird. Dies geschieht bei der Oxydation der Phosphotriose (3-Phospho-glycerinaldehyd) zu 1,3-Diphospho-glycerinsäure. Eine Phosphokinase überträgt dann das Phosphorsäureradikal an der Carboxylgruppe auf die Adenosindiphosphorsäure, wobei 3-Phosphoglycerinsäure übrigbleibt und dann auf bekanntem Wege weiter zu Brenztraubensäure verarbeitet wird. Die Hefezelle ist daher während der Gärung gezwungen, dauernd frisches anorganisches Phosphat aus dem Kulturmedium nachzuschaffen, um den Bedürfnissen ihres Stoffwechsels nachzukommen. Unter diesen Voraussetzungen werden nunmehr die Beobachtung, daß verarmte Hefe nur geringere Phosphatmengen aufzunehmen imstande ist, ebenso wie die pH-Abhängigkeit der Phosphataufnahme leichter verständlich. Verarmte Hefe besitzt keine Ausgangsprodukte für den Gärprozeß; ihr Stoffwechselgeschehen ist weitgehend eingeschränkt. Sie hat deshalb einen geringen Phosphatbedarf und es steht ihr vielleicht sogar noch eine gewisse Menge unverbrauchten anorganischen Phosphats innerhalb der Zelle zur Verfügung. Deshalb nimmt sie wohl aus einer hochkonzentrierten Phosphatlösung das Salz auf, ist aber nicht imstande, aus stark verdünnten Lösungen Phosphat gegen das Konzentrationsgefälle zu resorbieren. Frische Hefe verbraucht hingegen für ihre Stoffwechselprozesse stets Phosphat, weshalb der Gehalt an wirklichen anorganischen Phosphat in der Zelle immer recht gering ist und die Zellen auch aus verdünnten Lösungen Phosphat resorbieren.

Wie schon oben erwähnt, halten wir die Phosphatbestimmungen, welche *Malm*<sup>5</sup> an der Hefezelle durchgeführt hat, aus methodischen Gründen für unzuverlässig; wir stützen uns hier insbesondere auf die Untersuchungen von *Lipmann*,<sup>7</sup> der nachgewiesen hat, daß bei der üblichen Phosphatbestimmung nach *Fiske* und *Subbarow* durch die bei dieser Methode verwendeten Reagenten die sehr empfindlichen Acylphosphate hydrolysiert werden, so daß außer dem anorganischen Orthophosphat auch noch die abgespaltenen Phosphorsäurereste der Acylphosphate mitbestimmt werden, was die erhaltenen Werte natürlich stark verfälschen kann. Wir nehmen deshalb an, daß die Konzentration an wirklichem anorganischen Phosphat in der

<sup>7</sup> Adv. Enzymology 6, 231 (1946).

frischen Hefezelle eine sehr geringe ist; eine exakte Bestimmung dieses Phosphatgehalts stößt allerdings auf große Schwierigkeiten und konnte bisher hier noch nicht durchgeführt werden.

Die oben ausgeführte Theorie ist auch imstande, die Beobachtung von *Malm*, daß verarmte Hefe nach dreistündigem Schütteln mit Glucoselösung wieder fähig wird, Phosphat aus verdünnteren Lösungen zu resorbieren, zu erklären. Durch die Glucosezugabe erhält die Hefezelle den Rohstoff für den Gärungsprozeß und wird dadurch wieder phosphatbedürftig. Auch die pH-Abhängigkeit der Phosphataufnahme läßt sich auf diesem Wege deuten: das Optimum der Gärfähigkeit der Hefe wird im schwach sauren Medium erreicht; im alkalischen Medium nimmt der Gärprozeß zum Teil einen anderen Verlauf (dritte Vergärungsform nach *Neuberg*); Acetaldehyd wird unter diesen Bedingungen nach *Cannizzaro* dismutiert und steht daher nicht mehr zur Reoxydation der reduzierten Cozymase zur Verfügung. Die Folge davon ist, daß ein Teil des Phosphoglycerinaldehyds die Rolle des Acetaldehyds übernimmt und zu Phosphoglycerin reduziert wird, das durch die  $\alpha$ -Glycerophosphatase zu Glycerin und Orthophosphorsäure gespalten wird. So steht eine größere Menge anorganischen Phosphats zur Verfügung; außerdem wird ein Teil des Phosphoglycerinaldehyds nicht der früher geschilderten mit einer Phosphorylierung gekoppelten Oxydation zu 1,3-Diphospho-glycerinsäure unterzogen, so daß auch der Bedarf an Phosphorsäure ein geringerer ist. Die geringere Phosphataufnahme im alkalischen Medium wird dadurch wohl eindeutig geklärt.

Nach dieser Analyse der von *Malm* durchgeführten und von uns teilweise reproduzierten Versuche soll nun die Deutung der von uns beobachteten Vermehrung der Phosphataufnahme unter dem Einfluß von Chinonlösungen versucht werden. Es stehen hier grundsätzlich zwei Erklärungsmöglichkeiten zur Debatte: erstens eine Veränderung der Semipermeabilität der Zellmembranen in ähnlicher Art, wie sie bei den Versuchen an *Beta vulgaris rubra* beobachtet wurde. Eine andere Möglichkeit wäre, daß die Chinone einen fördernden Einfluß auf die Teilprozesse der Gärung haben, die anorganisches Phosphat verbrauchen und dadurch den Phosphatbedarf der Zelle erhöhen.

Für die erste Anschauung spricht, daß die Wirkungsreihen bei der Rübe und bei Hefe weitgehend übereinstimmen (s. Tabelle 6).

Die Übereinstimmung ist, wie man sieht, mit Ausnahme der Stellung von 2-Methylnaphthochinon und 2-Chlornaphthochinon eine vollkommene.

Gegen diese erste Erklärungsmöglichkeit sprechen aber besonders unsere Kontrollversuche, welche beweisen, daß der Einfluß der angewandten Chinonlösungen nicht genügt, die Zellmembranen der Hefe soweit zu schädigen, daß die Hefezelle Orthophosphat an die umgebende Flüssigkeit abgibt. Eine einseitige Schädigung im Sinne einer größeren

Durchlässigkeit nur in einer Richtung erscheint uns denn doch recht unwahrscheinlich.

Tabelle 6. Reihung der Chinone nach der Stärke ihrer Wirkung.

Rote Rüben	Hefe
2-Chlor-3-oxy-naphthochinon	2-Chlor-3-oxy-naphthochinon
Chlorbenzochinon	Chlorbenzochinon
2-Methylnaphthochinon	2-Chlornaphthochinon
1,2-Naphthochinon	1,2-Naphthochinon
Toluchinon	Toluchinon
Benzochinon	Benzochinon
2-Chlornaphthochinon	2-Methylnaphthochinon
4-Methoxytoluchinon	4-Methoxytoluchinon

Es erscheint uns deshalb die Annahme glaubhafter, daß die Chinone in irgend einer Form die Orthophosphat benötigenden Teilprozesse der Gärung fördern und dadurch den Phosphatbedarf der Zelle erhöhen. Es wäre z. B. vorstellbar, daß das Initialstadium der Gärung, in welchem ein Teil des Phosphoglycerinaldehyds die Rolle eines Wasserstoffakzeptors übernehmen muß, weil noch kein Acetaldehyd gebildet wurde, dadurch umgangen wird, daß die Chinone als Wasserstoffakzeptoren den Acetaldehyd vertreten können, wozu sie ja in hervorragendem Maße befähigt erscheinen. Dadurch würde der Phosphatbedarf der Zelle gesteigert werden, da kein Phosphoglycerinaldehyd mehr zu Phosphoglycerin hydriert würde, also eine erhöhte Menge jener Substanz für die oxydative Phosphorylierung zur Verfügung stünde und anderseits kein zusätzliches Phosphat aus der Hydrolyse von Phosphoglycerin mehr in Anspruch genommen werden könnte. Somit wäre die quantitativ verschiedene Wirkung ihrer verschiedenen Fähigkeit in die Zelle einzudringen, zuzuschreiben, denn grundsätzlich müßten alle Chinone in gleicher Weise befähigt sein, als Wasserstoffakzeptoren zu fungieren. Vielleicht lässt sich mit dieser Vorstellung auch die Übereinstimmung der Wirkungsreihen unserer beiden Versuchsserien erklären.

Die Verringerung der Phosphataufnahme durch Einwirkung der Invertseifenlösung, ließ sich dann durch die Vorstellung deuten, daß die durch den Wirkstoff geschädigten Zellen wichtige Teilnehmer an den Gärungsreaktionen an das Außenmedium abgeben, wodurch die beteiligten Systeme in der Zelle derart verdünnt werden, daß die Gärung und damit der Phosphatbedarf verringert wird. Dafür spricht insbesondere die mitgeteilte Beobachtung, daß unter der Einwirkung von Invertseifenlösung die Zelle meßbare Mengen Phosphats an ein phosphatfreies Medium abgibt.

Wir sind uns der Tatsache bewußt, daß die hier angeführten Erklärungsversuche noch weitgehender experimenteller Stützung bedürfen. Versuche in dieser Richtung sind im Gange.

### Zusammenfassung.

Es wird über Versuche berichtet, die unternommen wurden, um festzustellen, ob die antibakteriellen Wirkstoffe der Chinongruppe imstande sind, ebenso wie etwa das von *Hotchkiss* auf diese Fähigkeit untersuchte Tyrocidin, pflanzliche Zellmembranen in ihrer streng selektiven Semipermeabilität zu schädigen. Es konnte festgestellt werden, daß bei Geweben von *Beta vulgaris rubra* tatsächlich manchen Chinonen die Fähigkeit zukommt, die Zellmembranen und Plasmahäutchen derart zu verändern, daß diese sonst zurückgehaltenes Anthocyan an die Außenflüssigkeit abgeben.

Weiters wurde versucht, die seinerzeit von *Malm* beschriebene Phosphataufnahme der Hefezelle auf ihre Beeinflußbarkeit durch Chinonlösungen zu untersuchen. Unter der Einwirkung von solchen Lösungen tritt eine meßbare Vermehrung der Phosphataufnahme ein; allerdings dürfte diese Erscheinung nicht auf einer Veränderung der Permeabilitätsverhältnisse beruhen, sondern durch eine Beeinflussung der Stoffwechselvorgänge und eine damit verbundene Erhöhung des Phosphatbedarfs der Hefezelle zu erklären sein.

Zusammenhänge zwischen den beschriebenen Effekten und der antibiotischen Wirkung der untersuchten Chinone konnten nicht festgestellt werden.