

2) Τὸ οἰνόπνευμα ἐπιδρᾷ εὐνοϊκῶς ἐπὶ τῆς μυϊκῆς ἐργασίας διὰ τῆς ταχείας καὶ ἠδύξημένης ἀνασύνθεσσεως τοῦ γαλακτικοῦ ὀξέος εἰς μυϊκὸν γλυκογόνον.

Τὸ οἰνόπνευμα ἄρα ἐπιδρᾷ ἐπὶ τῆς μυϊκῆς ἐργασίας κατὰ δύο τρόπους: Διὰ τοῦ κεντρικοῦ νευρικοῦ συστήματος ἀφ' ἑνός, ἀφ' ἑτέρου δὲ διὰ τῶν ὑπ' αὐτοῦ προκαλουμένων μεταβολῶν τοῦ μυϊκοῦ χημισμού.

#### ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung des Alkohols auf die Blutmilchsäure nach Adrenalin untersucht. In der I. Mitteilung wurde die Ansicht vertreten, dass die durch Alkohol verursachte Einsparung der Leberglykogenvorräte eine Verhinderung der Entstehung von Azetonkörpern zur Folge hat.

Beim Diabetes Mellitus kommt es aber zu einer gesteigerten Spaltung des Muskelglykogens, die dadurch entsteht, dass das gegenregulatorische System das Übergewicht erhält.

Es wäre demnach vom Interesse zu sehen, ob der Alkohol imstande ist, die durch Adrenalin normalerweise hervorgerufene Hyperlactacidämie irgendwie zu beeinflussen.

Tatsächlich lässt sich an Menschen zeigen, dass nach Alkoholgaben (0,5 gr. pro Kg. Körpergewicht als 75% Lösung) die durch Adrenalin hervorgerufene Steigerung der Blutmilchsäure weniger ausgeprägt ist.

Weiter lässt sich zeigen, dass die nach Muskelarbeit beobachtete Steigerung der Blutmilchsäure durch gleichzeitige Alkoholgaben weniger in Erscheinung tritt. Auch ist sie von kürzerer Dauer. Für die Deutung dieser Befunde dürfte eine gesteigerte Resynthese der Milchsäure in den Muskeln in Betracht kommen. Der Alkohol greift also in der Peripherie, d. h. im Muskel an. Die dort durch den Alkohol zustandekommende Resynthese der Milchsäure hat eine Einsparung der Glykogenvorräte in den Muskeln und in der Leber zur Folge. Für die Wirkung des Alkohols auf die Muskelarbeit kommt also neben der Wirkung auf das Zentralnervensystem eine periphere Wirkung in Betracht.

BIOXHMEIA. — Beiträge zum Wirkungsmechanismus des Sulfanilamids und einiger seiner Derivate. III. Mitteilung. Die Wirkung auf Pepsin, Labenzym und Urease<sup>1</sup> von *N. Klissiunis*\*. Ἀνεκοινώθη ὑπὸ κ. Γ. Ἰωακείμωλου.

Die in dieser Arbeit angewandten Präparate waren folgende.

<sup>1</sup> Vgl. I und II Mitt. Praktika der Akademie Athen XV (1940), 472.

\* *N. Κλεισιούνης*, Συμβολαὶ εἰς τὸν μηχανισμόν τῆς ἐνεργείας τῶν σουλφοναμιδικῶν ἐνώσεων. 3η Ἀνακοίνωσις. Ἡ ἐπίδρασις ἐπὶ τῆς πεψίνης, τῆς πιτύας, καὶ οὐρέασης. (Ἀνεκοινώθη εἰς τὴν Συνεδρ. τῆς 10 Φεβρ. 1944).

1) Prontosil sol. (Bayer) vgl. Mitt. I.

2) Prontalbin (Bayer) vgl. Mitt. I. Eine Lösung von 0,6% zeigt  $P_H = 6,4 - 6,6$ .

3) Parasuccinylaminophenylsulfonamid (Chropi). Es stellt ein weisses im Wasser leicht lösliches Pulver dar. Wir berechneten das M. G. zu 272. Eine 10% Lösung des Präparats zeigt  $P_H = 7,0$ .

A) Wirkung auf eiweisspaltende Fermente.

I. *Wirkung auf Pepsin.* — Die Versuche wurden nach den Vorschriften des D. A. B. 6. ausgeführt. 10 g von gesiebttem Eiereiweiss werden in 50 ccm. Wasser von 50° C mit 0,5 ccm 25% HCl gleichmässig verteilt. Eine andere ebenso zusammengesetzte Probe enthält 2 ccm 2,5% Prontosil sol. Lsg. (0,0016 Mol.)

Man setzt den Proben je 0,2 g Pepsin zu und lässt die Proben im Wasserbad von 45° C, unter öfterem Umschütteln, 3 Stunden lang stehen. Nach dieser Zeit werden die Proben zentrifugiert und die Mengen der am Boden des Zentrifugenrohres gesammelten unverdauten Reste des Albumens verglichen. Man sieht, dass das Quantum der unverdauten Reste der giftfreien Probe 2-5 mal kleiner ist als die mit Prontosil angesetzte Probe.

II. *Wirkung auf die Labgerinnung.* — Die Untersuchung wurde nach der von Michaelis angegebenen<sup>1</sup> Methode ausgeführt. In 4 Reihen wurden in je 6 Röhrchen 1 ccm von Verdünnungen 1:100-1:3200 von einer frischen wässrigen 10% Pepsinlsg. gebracht. In die erste Reihe gibt man noch 0,25 ccm Wasser. Diese Reihe dient als Kontrolle. In die zweite Reihe kommen je 0,25 ccm. 5% Prontosil sol. Lsg. In die dritte 2,5% und in die vierte 1% lsg. In alle Röhrchen werden je 2 ccm gekochte oder auch frische Milch (1:10 mit 10%  $CaCl_2 \cdot 6H_2O$  lsg. verdünnt) zugesetzt. Die Tabelle 1 zeigt, dass relativ kleine Prontosilkonzentrationen (0,0065 Mol) die Milchgerinnung vollständig hemmen. Bei niedrigeren Konzentrationen geht die Hemmung der Milchgerinnung nur bis zu einer Konzentration 1:400-1:800 der Pepsinverdünnung.

TAB. 1.

Nr. des Röhrchens	Prontosil sol. Mol. Konzentrat	Verdünnung der Pepsinstammlösung					
		1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200
		Resultate nach 15'					
1)	— — —	+	+	+	+	+	—
2)	0,0065	—	—	—	—	—	—
3)	0,0032	+	+	+	—	—	—
4)	0,0013	+	+	+	+	—	—

+ bedeutet Gerinnung — bedeutet keine Gerinnung.

III. *Wirkung auf die Urease.* — Die Versuche wurden in Paaren angesetzt. Jedes Paar bestand aus Kontrolle und gifthaltiger Probe. Der

Fermentansatz bestand aus 10 ccm m/3 Phosphatengemisches von  $P_H$  6, 8—6, 9, 2 ccm 2% Fermentlösung\* und 0,5 ccm 3% Harnstofflösung und einigen Paraffintropfen. Nach einer Incubationszeit von 30' bei genau 45° C, wird ein kurzer Luftstrom durchgelassen. Man bricht die Fermentreaktion durch schnelles Zufügen von 10 ccm gesättigter  $Na_2CO_3$ -Lsg. und lässt die Pumpe 3/4 St. laufen. Nach dieser Zeit wird die Säurevorlage mit n/50 KOH titriert. Als Indikator dient Methylrot. Die zwischen der Kontrollen eines und desselben Versuchs bestehende Unterschiede schwanken zwischen 0,1-0,3 mg. N. Die Fermentmenge war so berechnet dass vom zugesetzten Harnstoff nur ein Teil gespalten wurde. So wurde in den Kontrollen der Tab. 2 von der als Harnstoff zugesetzten 7 mg. N, durch die zugesetzte Fermentmenge eine Harnstoffmenge gespalten entsprechend 3,26-5,46 mg. N, was einer 46-78% Spaltung des zugesetzten Harnstoffs entspricht. Bei den gifthaltigen Proben hatten wir aequimolare Lösungen der Sulfonamidverbindungen angewandt. In der letzten Spalte der Tabelle 2 haben wir die bei den Kontrollen gefundenen N-Werte gleich 100 gesetzt und darauf die beim Zusatz von Sulfonamidverbindungen gefundenen N-Werte bezogen. Aus solchen Versuchen ergibt sich dass bei Prontalbin die Spaltung 75-86% des Kontrollwertes ausmacht. Auch beim para-succinylaminophenylsulfonamid ist die Hemmung gering, indem die Spaltung 73-100% des Kontrollwertes ausmacht. (vgl. Tab. 2).

TAB. 2.

Dat.	Sojamehleextr. in ccm. in %	Zugesetztes Gift in g.-mol. Konz.	N-gefunden mg.—in %	N-relativ zu der Kontrolle = 100
14-8	2 2	0,154 0,07 Prontalbin	4,42 63,14	80,97
•	2 2	— —	5,46 78,0	100
15-8	2 2	0,264 0,07 p-succinylamino- phenylsulfonamid	2,38 34,0	73
•	2 2	— —	3,26 46,57	100

Diese Hemmung der Spaltung wird grösser oder kleiner entsprechend der Zunahme oder Abnahme der molaren Giftkonzentration. Durch die Anwendung einer starken Pufferung (Gemisch von m/3 Phosphaten von  $P_H$  6, 8—6, 9) war es möglich das  $P_H$  während der ganzen Incubationsdauer konstant zu halten. ( $P_H = 7,0$ ). Wir haben das  $P_H$  in folgender Weise geprüft. Wir haben zwei Probenpaare angesetzt, bestehend aus Kontrolle

\* Die Fermentlösung wurde in der nach der Arbeit von P. Rona und H. Petow<sup>8</sup> angegebenen Methode hergestellt. In den Fällen wo das Extract nicht frisch hergestellt werden konnte, hatten wir als Konservierungsmittel  $KH_2PO_4$  und Toluol angewandt.

und gifthaltigen Proben. Diese Paare waren ganz ähnlich zusammengesetzt wie die Versuchsproben. Wir prüften dann das  $P_H$  bei diesen Proben im Anfang der Incubation sowie am Ende vor dem Zusetzen des  $Na_2CO_3$ .

Anschliessend wollen wir einige Versuche beschreiben, die die Wirkung dieser Verbindungen auf die alkalische Harn gärung zeigen. Wir lösen im filtrierten Harn bestimmte Mengen des Giftes und verfolgen die  $P_H$ -änderung in den nächsten Tagen. Natürlich wird parallel eine Kontrollprobe angesetzt. Man bemerkt, dass in der Sulfanilamidprobe die  $P_H$ -verschiebung nach der alkalischen Seite viel später eintritt, als in der Kontrolle. Die Untersuchung auf  $NH_3$ -gehalt der Proben zeigt, dass dieser viel schneller in der Kontrolle ansteigt. (vgl. Tab. 3). Über die

TAB. 3.

Harn ccm.	Giftzusatz	$P_H$ sofort		$P_H$ nach 5 Tagen		$P_H$ nach 10 Tagen	
		mit Gift	ohne Gift	mit Gift	ohne Gift	mit Gift	ohne Gift
1) 20	0,1 g. Prontalbin	6,0	6,0	6,0	7,7	5,8	8,4
2) 25	» »	5,8	5,8	5,6	7,2	5,6	8,0

Beeinflussung der Fermentprozesse durch die Sulfonamide haben wir in der Literatur nur vereinzelte Angaben gefunden.

## ZUSAMMENFASSUNG

Es ergibt sich somit dass:

- 1) Die Pepsinwirkung sowie auch die Labgerinnung der Milch, durch Prontosil sol. gehemmt wird.
- 2) Die Ureasewirkung durch Prontalbin und Parasuccinylaminophenylsulfonamid unter den angewandten konzentrationen mässig gehemmt wird.
- 3) Die alkalische Gärung des Harnes durch Prontalbin gehemmt wird.

## LITERATUR

- 1) L. MICHAELIS, Praktikum der phys. Chemie. Berlin 1926. S. 3.
- 2) P. RONA und H. PETOW, Bioch. Zeitschrift Bd. III (1920) S. 134, vgl. auch P. RONA und P. GÜDRGY, ebenda S. 115.
- 3) W. LAVES, Klinische Wochenschrift 1940. II. Halbjahr S. 721.
- 4) R. KUHN, Die Chemie, 1942. S. 1 - 20.
- 5) G. DOMAGK und C. HEGLER, Chemotherapie bakteriell. Infektionen. Leipzig 1942. S. 71.

## ΠΕΡΙΛΗΨΙΣ

Ἐξητάσθη: 1) Ἡ ἐπίδρασις τῆς διαλυτῆς προντοσίλης ἐπὶ τῆς πέψεως τοῦ φολευκώματος διὰ τῆς πεψίνης.

Ἡ πέψις αὐτῆ ἐπιβραδύνεται ἐπὶ παρουσίᾳ διαλ. προντοσίλης.

2) Ἐξητάσθη ἡ ἐπίδρασις τῆς διαλ. προντοσίλης ἐπὶ τῆς πήξεως τοῦ γάλακτος ὑπὸ τὴν ἐπίδρασιν διαλ. πεψίνης. Αὕτη ἀναστέλλεται ἢ ἐπιβραδύνεται ἐπὶ παρουσίᾳ διαλ. προντοσίλης.

3) Ἐξητάσθη ἡ ἐπίδρασις τῆς οὐρεάσης ἐπὶ διαλ. οὐρίας εἰς  $P_{H} = 7,0$ . Διὰ προσδιορισμοῦ τοῦ κατὰ τὴν ἀπόσχισιν ταύτην παραγομένου  $N_2$  εὗρίσκειται ὅτι ἐπὶ παρουσίᾳ σουλφοναμιδῶν ἡ ἀπόσχισις τῆς οὐρίας ἐλαττοῦται. Οὕρα εἰς τὰ ὁποῖα προσετέθη προνταλβίνη δεικνύουν ἐπὶ μακρὸν χρόνον ἀναστολὴν τῆς ἀλκαλικῆς ζυμώσεως.

BIOXHMEIA. — Beiträge zum Wirkungsmechanismus des Sulfanilamids und einiger seiner Derivate. IV. Mitteilung. Chemische und Bakteriologische Untersuchungen beim Zuckerverbrauch des Bact. Coli in Gegenwart von Sulfonamidverbindungen von *N. Klissianis*. \* Ἀνακοινώθη ὑπὸ τοῦ κ. Γ. Ἰωακείμογλου.

In dieser Arbeit wurde Prontalbin angewandt. (vgl. Mitt. III.). In Fortsetzung früherer Untersuchungen über die Einwirkung der Sulfonamidverbindungen in vitro auf Bact. Coli<sup>1</sup> haben wir in dieser Arbeit versucht den Zuckerumsatz des B. Coli in Gegenwart von Sulfonamiden näher zu untersuchen. In Kölbchen von 100 ccm Inhalt wurden genau abgewogenen Mengen (0.4) g Traubenzucker (D. A. B. 6.) hineingetan. In bestimmte Kölbchen wurden auch genau abgewogenen Mengen von Prontalbin zugesetzt. Zu den Kölbchen wurde dann je 12 ccm einer filtrierten 4% Pepton und 1% NaCl—lsg. zugesetzt.

Die Kölbchen wurden dann 1 St. im Autoclav bei 110° C sterilisiert. Die Kölbchen wurden sofort nach dem Sterilisieren mit einer 24 Stunden alten Schrägagarkultur von Coli, die in 10 ccm 0,9% Na Cl—lsg. aufgeschwemmt wurde, in Mengen von je 1 ccm der Aufschwemmung infiziert. Die Kölbchen wurden dann teils bei 37° C, teils bei 41° C, bebrütet. Nach 4-5 Tagen wurden die Kölbchen aus dem Brutschrank herausgenommen. Die Kölbchen wurden dann zuerst gekocht. Dann wurde ihr Inhalt in Messkolben zu 100 übergeführt. Diese enthielten 1,4 ccm Bleiessig mit 0,75 ccm n/2 Essigsäure. Nach tüchtigem Schütteln wurde nach 10 Minuten mit Wasser aufgefüllt. Dann wurde, am besten durch Schleicher—Schüll Faltenfilter (extrahart 605), filtriert. Bei dieser Versuchsanordnung bleibt das Filtrat auf Bleiessigzusatz klar. Vom Filtrate des Pb—Niederschlages wurden 25 ccm mit 2,5-5 ccm gesättigter  $Na_2 SO_4$ —lsg. ad 50 ccm aufge-

\* *N. Κλεισιούνης*, Συμβολαὶ εἰς τὸν μηχανισμόν τῆς ἐνεργείας τῶν σουλφοναμιδικῶν ἐνώσεων. 4η Ἀνακοίνωσις. Χημικαὶ καὶ μικροβιολογικαὶ ἐρευναι ἐπὶ τῆς καταναλώσεως τοῦ σακχάρου ὑπὸ τοῦ κολοβακτηριδίου ἐπὶ παρουσίᾳ σουλφοναμιδικῶν ἐνώσεων.