

Zeitschrift: Mitteilungen der Naturforschenden Gesellschaft in Bern
Band: 8 (1951)

Artikel: Wirkung von Sulfonamiden und Antisulfonamiden auf das Wachstum von Pisumwurzeln in steriler Organkultur
Kapitel: Histologische und cytologische Aspekte
Autor: Anker, Walter
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-319454>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 18.10.2024

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

men. Unter dieser Berücksichtigung wirkt Adenosin deutlich enthemmend, während man durch das negative Resultat des Guanosin nicht unbedingt auf Inaktivität schließen darf.

Von den 2 geprüften Nucleotiden ist Cytidinphosphorsäure unwirksam, während Adenosinphosphorsäure entsprechend dem Resultat mit Cibazol ein Antagonist der Sulfonamidwirkung ist.

Die beiden Nucleinsäuren Ribonucleinsäure und Thymonucleinsäure sind vollständig wirkungslos.

HISTOLOGISCHE UND CYTOLOGISCHE ASPEKTE

Der erste Bericht über eine morphologische Veränderung der Zelle durch die Einwirkung der Sulfonamide stammt von L w o f f, N i t t i, T r e f o u e l und H a m o n [31], die bei *Polytomella caeca* neben der Hemmung der Vermehrung eine bedeutende Volumenvermehrung feststellten. Viel geeigneter zur Untersuchung von histologischen Veränderungen war natürlich die höhere Pflanze, und so sind die grundlegenden Untersuchungen über strukturelle Abnormitäten bei *Pisum*wurzeln von M a n g e n o t und C a r p e n t i e r [45] gemacht worden. Die mit Sulfonamid behandelten Wurzeln sind stark verdickt, da die Rindenparenchymzellen und die parenchymatischen Markzellen diametral hypertrophiert sind. Durch Veränderungen im Mark wird auch die Entwicklung der Gefäße gestört.

Histologie der Wurzelspitze von Pisum sativum nach der Behandlung mit Sulfanilamidothiazol

Die *Pisum*wurzeln wurden in steriler Organkultur in Röhren bei 23 ° im Dunkeln gezüchtet. Als Milieu wurde Nährlösung nach B o n n e r mit Aneurinzusatz verwendet. Eine Serie von 20 Wurzeln wurde als Kontrolle verwendet, während die andere Serie durch eine Cibazol-konzentration von 10^{-5} mol gehemmt wurde. Nach 26 Tagen wurden die Wurzelspitzen geschnitten und in Juel oder Zenker-Formol fixiert. Gefärbt wurden die Schnitte mit Eisenhaematoxilin-Kongokorinth oder mit der später besprochenen Ribonuclease-Toluidinblaumethode.

Im Längsschnitt durch die Wurzelspitze, die unter der Einwirkung des Cibazols verdickt und bräunlich verfärbt ist, zeigt sich nun folgendes Bild (vergleiche Mikroaufnahme I und VII):

Es sind in der Wurzelspitze keine embryonalen Zellen mehr zu finden. Die Zellen variieren sehr in der Größe, enthalten wenig Cytoplasma und große Vakuolen. Das Dermatogen scheint nicht verändert zu sein, höchstens im Vergleich zur Kontrolle mehrschichtiger. Stark deformiert und degeneriert ist das Periblem. Die Verdickung der Wurzel ist hauptsächlich auf die starke Anschwellung und Vergrößerung des Periblems zurückzuführen. Die parenchymatischen Periblemzellen (Rindenzellen) sind sehr unregelmäßig angeordnet, stark vergrößert, ja es bilden sich Riesenzellen, die bis 50mal größer sind als eine normale Zelle. Durch diese Zellwucherung wird das Dermatogen gesprengt und die hypertrophierten Rindenzellen stoßen nach außen. Das Plerom ist wenig verändert, aber auch hier sind die Zellen sehr verschieden in der Größe und zum Teil hypertrophiert. Das Plerom ist gegenüber der Kontrolle schon stark differenziert, und so finden wir auf dem Längsschnitt schon Tracheiden. Zwischen Zentralzylinder und Rinde, mit ersterem in Verbindung stehend, sieht man relativ zahlreich eine knospenartige Anhäufung von embryonalen Zellen. Es sind dies Nebenwurzeln im Anfangsstadium, deren Bildung nach *M a n g e n o t* und *C a r p e n t i e r* durch die Sulfonamide stimuliert wird, die aber in ihrer Entwicklung gehemmt nicht durch die Rinde stoßen.

Um festzustellen, ob die durch Sulfonamid gehemmte und verdickte Wurzel im Vergleich zur Kontrolle auch schwer geworden sei, wurde folgender Versuch unternommen. Es wurde das Frischgewicht und Trockengewicht von gehemmtten Cibazolwurzeln mit gleich langen Kontrollwurzeln verglichen. Dies wurde erreicht, indem man zuerst die Wurzelserie mit Cibazol kultivierte, und dann 9 Tage später die Kontrollserie ansetzte.

Sobald die beiden Wurzelserien ungefähr die gleiche Länge hatten, es war dies für die Cibazolwurzeln der 17. Tag und für die Kontrolle der 8. Tag, wurden sie geerntet und ihr Frischgewicht und Trockengewicht bestimmt.

	Zahl der Wurzeln	Länge in mm	Frischgewicht ganze Wurzel	Trockengewicht ganze Wurzel	Frischgewicht pro mm Wurzel	Trockengewicht pro mm Wurzel
Kontrolle	31	62,84	35,87 mg	2,77 mg	571 γ	44 γ
mit Cibazol	29	59,4	39,5 mg	5,0 mg	665 γ	84 γ

Damit ist gezeigt, daß bei gleicher Wurzellänge die durch Sulfonamid gehemmte Wurzel schwerer ist als die Kontrollwurzel, was auf die Verdickung und Zellwucherung zurückzuführen ist.

Histologie der enthemmten Wurzeln

Durch Cibazol gehemmte Wurzeln von *Pisum sativum* wurden durch p-Aminobenzoesäure und durch Adenosinphosphorsäure enthemmt, worauf die Wurzelspitzen fixiert, geschnitten und gefärbt wurden. Die Wurzelspitze ist in ihrer histologischen Struktur wieder normal; wir erkennen im Dermatogen, Periblem und Plerom keine Veränderungen mehr und die Zellen sind wieder embryonal, obwohl die Zellen nicht ganz so plasmareich erscheinen wie in der Kontrollwurzel. Damit zeigt sich, daß die Enthemmung nicht nur in bezug auf Längenwachstum und Gewicht der Wurzel erfolgt, sondern auch punkto morphologischer Struktur.

Stoffliche Veränderung der Zelle unter der Einwirkung der Sulfonamide

Die Bestandteile der Zelle enthalten Nucleinsäuren, und zwar besteht das basophile Cytoplasma vor allem aus Ribonucleinsäuren, während der Kern sich hauptsächlich aus Thymonucleinsäuren zusammensetzt. Um in «kernlosen» Zellen niederer Organismen wie Hefen und Bakterien Kernstrukturen nachweisen zu können, muß die Ribonucleinsäure entfernt werden. Dies geschieht nach Brachet [113] und nach Jeener und Brachet [114] mit Hilfe eines Fermentes, das die Ribonucleinsäure abbaut ohne die Desoxyribonucleinsäure anzugreifen. Dieses Ferment, die Ribonuclease, wird aus Rinderpankreas gewonnen und während 10 Minuten gekocht, um alle Spuren der thermolabilen Desoxyribonuclease zu entfernen. Da die Herstellung einer reinen Ribonuclease nach Kausche und Hahn [115] zu zeitraubend war, stellten wir das Ferment nach der Methode von Brachet her. Die mit der Ribonuclease behandelten Zellen werden mit Toluidinblau gefärbt, wobei nach Auswaschen mit Alkohol nur noch die thymonucleinsäurehaltigen Zellbestandteile die Farbe behalten.

Eine andere Methode zur Unterscheidung von Kernstrukturen vom basophilen Cytoplasma bei Bakterien stammt von Robinow [116] und Klieneberger-Nobel [117] und besteht in der Behandlung mit warmer Salzsäure und nachfolgender Giemsa-Färbung. Nach

Tulasne [118] und Tulasne und Vendrely [119] wird die Ribonucleinsäure des Bakteriencytoplasmas durch die HCl-Giemsamethode extrahiert, wodurch die Zelle ihren basophilen Charakter verliert. Die resistenteren Desoxyribose-haltigen Anteile bleiben erhalten und lassen sich färben.

Da die Sulfonamide die Synthese der Purine hemmen, wird auch die Biosynthese der Nucleinsäuren gestört sein. Mit Hilfe der erwähnten cytologischen Nachweisreaktionen kann deshalb untersucht werden, ob ein solcher störender Effekt durch Sulfonamidwirkung zu beobachten sei. Von dieser Idee ausgehend untersuchte 1946 Schopper [42] mit Hilfe der Methode von Jeener und Brachet [114] die Wirkung von Cibazol auf *Saccharomyces*. Bei den durch Cibazol behandelten Hefezellen war die cytoplasmatische Färbbarkeit gegenüber Toluidinblau schon nach einer Stunde Fermenteinwirkung vollständig verschwunden, während bei den Kontrollzellen über 4 Stunden gebraucht wurde. Das Ribonucleinsäuresubstrat scheint also unter der Wirkung der Sulfonamide irgendwie verändert worden zu sein, so daß es leichter durch die Ribonuclease angegriffen wird.

Auf Grund dieser Ergebnisse versuchten wir die gleiche Methode bei Wurzelspitzen von *Pisum sativum*. Es kamen Wurzelspitzen von Kontrollwurzeln und solchen, die mit einer 10^{-5} molaren Cibazolösung behandelt waren, nach einer Kulturdauer von 26 Tagen zur Untersuchung.

Technik

Die Pisumwurzelspitzen wurden geschnitten und während 24 Stunden in Mélange de Helly oder Zenker-Formol fixiert. Diese Fixierflüssigkeit hat den großen Vorzug, daß sie an Stelle der Essigsäure Formalin besitzt und eignet sich daher besonders gut für die Toluidinblaufärbung. Nach der Fixierung wurden die Wurzelspitzen 1 Stunde in fließendem Wasser gewaschen, langsam mit Alkohol entwässert, über Chloroform in Paraffin geführt. Die in Paraffin eingebetteten Wurzelspitzen wurden mit Mikrotom $10\ \mu$ dick geschnitten. Sie wurden nicht wie üblich mit Eiweißglycerin auf die Objektträger geklebt, sondern um jegliches Fremdeiweiß auszuschalten, direkt auf die peinlich sauberen Objektträger gelegt, wo sie dank molekularer Adhäsion festklebten. Zur Behandlung mit Ferment und zur Färbung wurde mit Xylol das Paraffin entfernt und über Alkohol in Wasser gebracht. Die Objektträger wurden im Brutschrank bei 60° zum Teil in destilliertem Wasser (Kontrolle) oder in der Fermentlösung eine bestimmte Zeit stehen gelassen, dann sehr gut in Wasser gewaschen und nun mit wässriger Toluidinblaulösung während kurzer Zeit gefärbt. Nun wird mit absolutem Alkohol differenziert, bis der Alkohol vom Objektträger vollständig farblos abläuft, das heißt bis aller überschüssiger

Farbstoff aus den Schnitten gespült ist. Nun werden die Schnitte in Xylol gebracht und dann in Kanadabalsam eingeschlossen. Diese Methode ergibt eine sehr schöne Kontrastfärbung der Zellkerne, da das Cytoplasma durch die fermentative Zerstörung der Ribonucleinsäure farblos, während der Kern und besonders seine Teilungsphasen leuchtend blau gefärbt sind. Die mit dem Panphot und Citophot gemachten Mikroaufnahmen (II, III, IV und V) zeigen solch behandelte Zellen mit Mitosestadien (Metaphasen und Telophasen).

Ergebnis der Fermentbehandlung

Es zeigte sich ein deutlicher Unterschied zwischen den normalen Kontrollwurzeln und den mit Cibazol behandelten. Bei den Cibazolwurzeln braucht es zwischen 15—20 Minuten Fermentbehandlung, um das Cytoplasma zu «entfärben», während bei den Kontrollwurzeln 30—40 Minuten erforderlich sind. Die Ribonucleinsäure wird also bei den mit Sulfonamid gehemmten Wurzelspitzen viel rascher abgebaut. Auffallend ist, daß auch bei langer Einwirkung der Ribonuclease der Nucleolus seine Färbbarkeit gegenüber Toluidinblau behält, obwohl er eigentlich aus Ribonucleinsäure besteht. Nun fand aber *Tulasne* und *Vendrelly* [119] *Staphylococcen*, die sehr resistent waren gegenüber Ribonuclease, obschon die chemischen Analysen [120, 121] gezeigt haben, daß die *Staphylococcen* beträchtliche Mengen der gleichen Ribo- und Desoxyribonucleinsäure besitzen wie die andern Bakterien. *Tulasne* und *Vendrelly* nehmen deshalb an, daß in diesen Organismen die Ribonucleinsäure mit Cytoplasmaprotein verbunden ist und daß die Ribonuclease nur die freie, nicht aber die gebundene Ribonucleinsäure angreifen kann. In unserem Fall würde also der Nucleolus aus solch gebundenen Nucleinsäuren bestehen.

Wenn also unter der Wirkung der Sulfonamide eine Veränderung der Ribonucleinsäure aufzutreten scheint, so daß dieselbe durch die Ribonuclease leichter abgebaut wird, ist es naheliegend anzunehmen, daß durch ein Antisulfonamid wieder der ursprüngliche Zustand der Zelle hergestellt wird. Das heißt der Organismus wäre also nicht nur äußerlich punkto Wachstum, histologischer und cytologischer Struktur, sondern auch in bezug auf seine stofflichen Reaktionen der Kontrolle gleich zu stellen.

Es wurde nur 1 Versuch in dieser Hinsicht gemacht, und zwar wurde die durch die Adenosinphosphorsäure aufgehobene Sulfonamidhemmung von Pisumwurzeln nach der Methode von *Jener* und *Brachet* untersucht. Um ganz genau gleiche Bedingungen zu haben, wurden die Wurzelspitzen der 3 Serien, also Kontrolle, mit Cibazol ge-

hemmte und die mit Cibazol behandelten, aber durch Adenosinphosphorsäure enthemmten Wurzelspitzen auf demselben Objektträger montiert. Die Wurzelspitzen von *Pisum sativum* waren nach 26 Tagen steriler Kultur geschnitten und fixiert worden. Die Präparate wurden einer Fermentbehandlung von 3 Minuten unterworfen. Die Mikroaufnahmen wurden mit dem Busch-Citophot gemacht.

Mikroaufnahme VI:

Bei der Kontrollwurzel ist das Cytoplasma blau gefärbt, das heißt die Ribonucleinsäure ist noch nicht abgebaut worden. Die Kerne mit ihrem Chromatingerüst, speziell aber die Kernteilungsphasen sind stärker blau gefärbt als das Cytoplasma.

Mikroaufnahme VII:

Die stark verdickte und degenerierte Wurzelspitze der mit Cibazol behandelten Wurzel hat vollständig farbloses Cytoplasma, so daß sich nun die blau gefärbten Kerne gut abheben. Die Ribonucleinsäure ist also gegenüber der Kontrolle viel rascher abgebaut worden.

Mikroaufnahme VIII:

Die Hemmung der Wurzel ist durch Adenosinphosphorsäure aufgehoben worden, was sich deutlich in der histologischen Struktur äußert. Sehr überraschend ist nun die Tatsache, daß sich die enthemmte Wurzelspitze in bezug auf die stoffliche Reaktion von der Kontrolle unterscheidet. Das Cytoplasma ist farblos, während die dicht vorhandenen Zellkerne blau gefärbt sind. Die Ribonucleinsäure des Cytoplasmas ist also im Gegensatz zur Kontrolle abgebaut worden und verhält sich somit gleich wie bei der gehemmten Wurzel.

Damit ergeben sich neue Ueberlegungen. Wir haben gestützt auf die cytologische Untersuchung angenommen, daß die Sulfonamide die Ribonucleinsäure irgendwie verändert, und daß diese Veränderung ein Grund der Wachstumshemmung sei. Offenbar ist nun dieser Eingriff nur sekundärer Bedeutung, oder aber die Wurzel besitzt die Möglichkeit, auf anderem Wege diese Schädigung gut zu machen.

Sulfonamidwirkung auf Zellteilung

Seit der Entdeckung, daß Polyploidie bei Pflanzen durch Colchizin erzeugt werden kann (B l a k e s l e e [122, 123], E i g s t i [124]), wurde

nach anderen Chemikalien gesucht, die imstande sind, Polyploidie hervorzurufen. So berichtet E i g s t i [125] von mitotischen Unregelmäßigkeiten im Pollenschlauch von *Tradescantia occidentalis* bei einer Behandlung mit Sulfanilamid in einer Konzentration von 1 : 10 000. Größere Konzentrationen sollen die Bildung des Pollenschlauches hemmen. T r a u b [126] untersucht *Allium*wurzeln und findet nach einer 48stündigen Behandlung mit einer 0,5 %igen Sulfanilamidkonzentration polyploide und zweikernige Zellen. Weitere Untersuchungen über den Einfluß von Sulfonamiden auf die Wurzeln von *Allium cepa* stammen von P e t e r s [127], der von einer starken Kontraktion der Chromosomen in der Metaphase und einer Hemmung des Spindelapparates berichtet. Der Eintritt der Zellen in Mitose sei gehemmt und nach 48stündiger Behandlung seien Teilungen selten zu beobachten. Im allgemeinen haben die Sulfonamide eine schwächere Polyploidiewirkung als Colchizin, nur P e t e r s berichtet, daß bei einigen Arten von *Vaccinium* das Sulfanilamid wirksamer sei. Ein weiterer Beitrag zu diesen Untersuchungen liefert F u l l e r [128], der wiederum die cytologische Wirkung von Sulfonamiden auf *Allium cepa* prüft. Eine Sulfanilamidkonzentration von 0,5 % zeigte im allgemeinen die gleichen Ergebnisse wie die von P e t e r s. Hauptsächlich also Verdickung und Verkürzung der Chromosomen, Störung des Spindelapparates, dann tetraploide Metaphasen und Anaphasen.

Zu erwähnen sind ferner die Untersuchungen von B a u c h [129, 130] bei Wurzeln von *Zea Mays* und *Allium cepa*. Eine Konzentration von 2 % Prontosil hemmt das Wachstum der Wurzeln um 50 %, wobei aber die Mitosen in normaler Weise vor sich gehen. Andere Sulfonamide verursachen in konzentrierten Lösungen bei der Zwiebelwurzel typische Keulenbildung, ähnlich den durch Colchizin hervorgerufenen. Diese Sulfonamidkeulen unterscheiden sich aber von den Colchizinkeulen dadurch, daß bei ersteren geordnete Mitosen und keinerlei Störung des Spindelapparates vorkommen. Eine Ausnahme macht nur das Sulfanilamid selbst. Es unterdrückt in der Telophase die Zellwandbildung, was zu zweikernigen Zellen führt. Bei der synchron erfolgenden Teilung dieser beiden Kerne können benachbarte Ana- oder Telophasenplatten miteinander verschmelzen, so daß nunmehr in der Zelle 2 tetraploide Kerne vorhanden sind. Sehr eigenartig sind die Ergebnisse von B a u c h über den Antagonismus zwischen Colchizin und Sulfonamiden. So soll eine 2 %ige Prontosillösung den Colchizineffekt, das heißt Keulenbildung und Polyploidie aufheben. Nicht alle Sulfon-

amide wirken dem Colchizin gegenüber antagonistisch. Wirksam sind die Bindungen des p-Aminophenylsulfonamids mit bestimmten heterozyklischen Ringen, wie dem Pyrimidin-, dem Thiazol- und dem Thio-diazolring. Unwirksam sind Sulfapyrimidin und Sulfaguanidin.

Auch unsere Wurzelspitzen von *Pisum sativum* wurden auf die von Peters und Fuller gefundenen Ergebnisse hin untersucht. Die Wurzeln wurden während 260 Stunden kultiviert, und zwar eine Serie als Kontrolle, die andere mit einem Zusatz von Irgafen 10^{-5} mol. Die Wurzelspitzen wurden 6μ dick geschnitten und nach der Methode von Robinow und Tulasne und Vendrely behandelt. Die Präparate wurden 8 bis 14 Minuten mit n-HCl bei 60° behandelt, sehr gut gewaschen und gefärbt. Statt der Giemsa-Färbung mit Azur Eosin, die nach der Einbettung in Kanadabalsam sehr rasch verblaßte, färbten wir die Präparate mit einer 1%igen Toluidinblaulösung. Durch die Extraktion der Ribonucleinsäure des Cytoplasmas ergibt sich eine sehr schöne Färbung der Kerne und ganz speziell der Chromosomen in den Mitosestadien.

Die mit Irgafen behandelten Zellen weisen keinerlei Störungen in den Mitosestadien auf, wie sie zum Beispiel Fuller beschrieben hat. Dabei ist aber der Konzentrationsunterschied zu betrachten. Fuller braucht eine Konzentration von 0,5% Sulfanilamid, das sind 5000γ pro cm^3 Nährlösung. Meine Pisumwurzeln wurden durch eine 10^{-5} molare Irgafenlösung gehemmt, das sind $3,27 \gamma$ pro cm^3 , also eine 1000mal schwächere Konzentration.

Ein deutlicher Unterschied zwischen der Kontrollwurzel und der Sulfonamidwurzel war die reduzierte Zahl der Mitosen der letzteren. Zur Untersuchung dieser Verhältnisse wurde auf einer gleich großen Fläche eines Wurzelspitzenlängsschnittes mit Hilfe eines Mikrometers die Zahl der Ruhekerne und Mitosen bestimmt. Die Fläche war $4 \cdot 0,167$ mm in der Länge und $2,3 \cdot 0,167$ mm in der Breite, das ergibt eine Fläche von $2,56 \text{ mm}^2$. Um einen guten Durchschnitt zu erhalten, wurde diese Fläche bei 5 Wurzelspitzen ausgezählt.

	Ruhekerne	Prophasen	Meta-phasen	Ana-phasen	Telo-phasen
Kontrolle 185 Std. kultiviert	811	26	12,6	3,2	9
Irgafen 10^{-5} mol 185 Std. kult.	906	12	4,2	0,2	1,8

Wenn wir die Zahl der Anaphasen gleich 1 setzen, so ist das Verhältnis der Prophasen, Metaphasen, Anaphasen und Telophasen bei der Kontrolle 8,1 : 4 : 1 : 2,8, während es bei den durch Irgafen gehemmten Wurzelspitzen 60 : 21 : 1 : 9 ist.

Durch die Einwirkung des Sulfonamids wird also die Zahl der Mitosen reduziert, und zwar ersehen wir aus dem Zahlenverhältnis der einzelnen Teilungsphasen, daß die eigentliche Störung der Kernteilung von der Metaphase an beginnt.

DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit konnte sehr schön gezeigt werden, daß die Sulfonamide nicht nur die Mikroorganismen in ihren Stoffwechsel schädigen und so bakteriostatisch wirken, sondern daß auch die höhere Pflanze und speziell die isolierte Wurzel in Organkultur gleich reagiert.

Worauf beruht nun die bakteriostatische Erscheinung? Die Blockierung der Lebensvorgänge in einer Zelle beruht unter anderem auf einem Fehlen eines lebensnotwendigen Bestandteiles oder auch auf einem nicht aktionsfähig sein eines solchen. So muß bei einem heterotrophen Organismus nur der Wirkstoff, dessen Synthese der Organismus nicht ausführen kann, fehlen, um eine Unmöglichkeit des Wachstums oder eine Bakteriose zur Folge zu haben. Bei einem autotrophen Organismus kann ein solcher statischer Effekt dadurch erfolgen, daß wir einen lebenswichtigen Bestandteil künstlich physikalisch oder chemisch so verändern, daß er nicht mehr aktionsfähig ist. Als physikalischen Eingriff wäre die durch Erhitzen erfolgte Koagulation der Proteine zu erwähnen, während wir als Beispiel einer chemischen Veränderung die Mercaptidbildung von Enzymen und die dadurch bedingte Hemmung der Fermenttätigkeit kennen. Diese chemische Blockierung kann meistens dadurch rückgängig gemacht werden, indem man die blockierte Substanz im Ueberschuß hinzufügt und somit das «vergiftende» Reagens absättigt. Gerade durch diese Entthemmung sind wir vielfach imstande, den Wirkungsort der Hemmung festzustellen. Ein klassisches Beispiel dieser Art wurde das Sulfonamid-Antisulfonamidproblem. Hier wurde erst durch das Sulfonamid das verdrängte und blockierte Vitamin, die p-Aminobenzoensäure entdeckt, während später durch die Befunde, daß Purine auch Antisulfonamidwirkung besitzen, der effektive Wirkungsort der Sulfonamide und damit der Grund der bakteriostatischen Wirkung gefunden wurde.