

# Diskussion

Objektyp: **Chapter**

Zeitschrift: **Mitteilungen der Naturforschenden Gesellschaft in Bern**

Band (Jahr): **8 (1951)**

PDF erstellt am: **16.07.2024**

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

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 Bakteriostase 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 Enthemmung 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.

Die p-Aminobenzoesäure vermag also die Hemmung des Wurzelwachstums durch Sulfonamide vollständig aufzuheben, das heißt die höhere Pflanze reagiert gleich wie die Mikroorganismen. Nur das Konzentrationsverhältnis zwischen Sulfonamid und PAB ist unterschiedlich. Das Verhältnis zwischen Sulfonamid und PAB ist bei der Pisumwurzel ungefähr 1 bis 50, während dieses Verhältnis bei Mikroorganismen bedeutend größer, bis 1000 und mehr ist. Nun ist zu bedenken, daß wir auf der einen Seite ein Meristem, auf der andern Seite Einzelzellen haben, und daß die Oberflächenverhältnisse und Absorptionsverhältnisse somit ganz anders sind und dadurch diesen Unterschied bedingen können.

Andererseits ist die Empfindlichkeit der Wurzel in isolierter Organkultur gegenüber den Sulfonamiden beträchtlich und erreicht oder übertrifft sogar diejenige von Mikroorganismen. So benötigt Schöpfer [43] 80  $\gamma$  Irgafen oder 140  $\gamma$  Cibazol pro  $\text{cm}^3$  um eine 50%ige Hemmung bei *Neurospora sitophila* (Mutante PAB) zu erzielen, und nach Wyß, Grubauch und Schmelkes [131] hemmen 3  $\gamma$  Sulfathiazol pro  $\text{cm}^3$  bei *Staph. aureus* und 6,5  $\gamma$  bei *Esch. coli* das Wachstum um 50%, während Bonner [51] nur 2  $\gamma$  Sulfathiazol pro  $\text{cm}^3$  braucht, um das Wachstum der in Organkultur kultivierten Wurzeln von *Solanum lycopersicum* um 50% zu hemmen, und in unseren Versuchen eine Hemmung des Wurzelwachstums von *Pisum sativum* in steriler Organkultur um 50% mit einer Konzentration von 0,5  $\gamma$  Irgafen und 1,5  $\gamma$  Cibazol pro  $\text{cm}^3$  erreicht wurde.

Auffallend waren nun die Ergebnisse mit p-Aminobenzoylglutaminsäure. Bei den meisten Resultaten an Mikroorganismen war die PABG von schwächerer Wirksamkeit als PAB. Bei der Pisumwurzel in steriler Organkultur scheint nun die p-Aminobenzoylglutaminsäure (PABG) eine größere Aktivität zu besitzen als PAB, jedenfalls in bezug auf das Trockengewicht. Die gegenüber dem Sulfonamid rund 1000mal kleinere PABG-Konzentration enthemmt die Wurzeln noch sehr deutlich, während die gleiche PAB-Konzentration gar keine Wirkung mehr zeigt. Wenn wir die beiden Entthemmungskurven von PAB und PABG miteinander vergleichen, so fällt auf, daß trotz der abnehmenden Konzentration von PABG das Maß der Entthemmung konstant bleibt. Es scheint also die p-Aminobenzoylglutaminsäure für die Wurzel ein besserer Antagonist der Sulfonamidwirkung zu sein als die PAB.

Aus diesen Ueberlegungen heraus sollte die Pteroylglutaminsäure als höherer Wirkstoffkomplex eine bessere Wirksamkeit besitzen als

PAB und eventuell sogar diejenige der PABG übersteigen. Die Ergebnisse bei den Mikroorganismen lauten anders; so ist die Aktivität der Folsäure 10- bis 100mal kleiner als PAB. In unseren Versuchen ist die Aktivität der Pteroylglutaminsäure ungefähr gleich groß wie diejenige der PAB, wobei wieder diese Erscheinung der Konstanz des Enthemmungsgrades auftritt. Vergleichen wir das Maß der Enthemmung durch eine PAB-Konzentration von  $1 : 6 \cdot 10^8$  (1000mal kleiner als die Sulfonamidkonzentration) mit demjenigen der Pteroylglutaminsäure, so wirkt letztere deutlich stärker. Wir haben also ganz ähnliche Verhältnisse wie bei der p-Aminobenzoylglutaminsäure.

Wie steht es nun mit den Konzentrationsverhältnissen bei den Purinen und Nucleinsäuren? In unseren Versuchen wurde die Konzentration der Purine usw. 50mal größer gewählt als die Irgafenkonzentration. Daß aber zum Beispiel Adenin die gleiche Aktivität erreichen kann wie PAB zeigten die Versuche von Schöpfer [41]. Natürlich spielen Löslichkeits-, Resorptions- und Permeabilitätsverhältnisse sicher eine gewisse Rolle.

Vergleichen wir die Ergebnisse der Nucleinsäuren und ihrer Bausteine als Antagonisten der Sulfonamide bei den Mikroorganismen und bei unsern Versuchen, so fällt vor allem auf, daß bei der Pisumwurzel die Purinbase Adenin kein Antisulfonamid ist. Erst das Nucleosid, die Verbindung einer Pentose mit einer Purin- oder Pyrimidinbase, in unserem Falle die Verbindung von Adenin mit d-Ribose kann von der Wurzel als Antagonist gegen das Sulfonamid verwendet werden. Wird das Nucleosid mit Phosphorsäure verknüpft, erhalten wir das Nucleotid, also hier die Adenosinphosphorsäure oder Adenylsäure, welche die hemmende Wirkung der Sulfonamide vollständig aufzuheben vermag. Eigentlich sollte nun die Hefenucleinsäure als ein Polynucleotid auch wirksam sein, was aber in unseren Versuchen nicht der Fall war. Wahrscheinlich spielt aber bei der Wirksamkeit einer Substanz und ganz besonders bei einem differenzierten Meristem die Permeabilität eine große Rolle.

Von den Purinen wirkt einzig Guanin, während alle 3 geprüften Pyrimidinbasen aktiv waren. Besonders bemerkenswert ist die Wirkung von Thymin, wurde doch gerade hier von Winkler und de Haan die Verbindung mit der Pteroylglutaminsäure gezeigt. Die Tatsache, daß Guanin als 2-Amino-6-oxypurin wirksam ist, dagegen Hypoxanthin als 6-Oxypurin und Adenin als 6-Aminopurin nicht, zeigt die komplizierten Verhältnisse, die hier auftreten.

Die Wirkung der Sulfonamide auf die Wurzel äußert sich entsprechend der Bakteriostase in einem Stillstand des Längenwachstums, während die Bildung der Nebenwurzeln oft noch andauert, wie dies *Mangenot* und *Carpentier* zeigten. Durch diese «Rhizostase» ist auch das Trockengewicht vermindert, aber nicht proportional der Hemmung des Längenwachstums, da die gehemmte Wurzel auch dicker ist als die Kontrollwurzel. Diese Verdickung ist auf eine starke Zellwucherung speziell im Periblem zurückzuführen. Wenn wir auf der einen Seite eine Hemmung des Wachstums haben, andererseits eine Zellwucherung, so scheint das widersinnig zu sein. Aber die Hemmung des Wurzelwachstums zeigt sich vor allem in der Länge, während die Zellwucherung sich als Dickenwachstum äußert, indem die Periblemzellen diametral hypertrophieren. Auch beim Colchizin kennt man neben der Hemmung und Störung der Mitosen noch die sogenannten c-Tumoren. Ein Mitosegift bringt eben den ganzen Ablauf der Zellteilung in Unordnung, und zwar wird sich die Wirkung wahrscheinlich je nach der Art des Meristems verschieden äußern.

Die bisherigen Forschungen über das Sulfonamidproblem und unsere eigenen Versuche lassen die Möglichkeit erkennen, daß es neben der bekannten und experimentell bewiesenen Wirkung der Sulfonamide, die in der Verdrängung der PAB und der damit zusammenhängenden gestörten Biosynthese der Nucleinsäuren besteht, noch einen andern Wirkungsmechanismus geben könnte. Um diesen hypothetischen Gedanken zu erläutern, wenden wir uns kurz dem Problem der Mitosehemmung zu.

Die heute bekannten Zellkerngifte scheinen eine sehr verschiedene Wirkungsweise zu besitzen, da jedenfalls die pathologischen Erscheinungen sich ungleich äußern. Nach Ansicht von *Bauch* und *Geißler* können wir die Mitosegifte in 3 Typen einteilen: in die Spindelgifte, Zellteilungsgifte und Chromosomengifte. Andere Autoren wie *Marquart* sprechen von einer Ruhekerntgiftstörung, einer Spindelgiftstörung und einer unspezifischen physiologischen Störung, während *Heilmeyer* eine ganze Reihe von verschiedenen Wirkungstypen aufstellt. Man kann sich aber fragen, ob eine solche Unterscheidung zweckmäßig ist, und ob nicht die Konzentration des Mitosegiftes und der individuelle physiologische Zustand der vergifteten Zelle für das ungleiche Verhalten verantwortlich sei, und infolgedessen die Wirkungsweise eine mehr oder weniger ähnliche sei.

Die durch H. und R. L e t t r e [132] erbrachte Tatsache, daß die Wirkung der Mitosegifte vom Trypaflavintyp durch Nucleinsäuren (Hefe- und Thymonucleinsäure) aufgehoben wird, zeigt, daß der chemische Angriffspunkt der cytostatischen Stoffe die Nucleoproteide sind. In neueren Arbeiten konnte in Zellen, die mit Stilbamidin, einem Mitosegift, behandelt waren, eine Verbindung von Stilbamidin mit Desoxyribonucleinsäure nachgewiesen werden und damit der Grund der Mitosestörung gedeutet werden.

Kehren wir nun zu den Sulfonamiden und deren Wirkung auf die Pflanzenzelle zurück. Was uns bei unseren Versuchen überraschte, war die Tatsache, daß sich bei der enthemmten Wurzelspitze die Ribonucleinsäure auf Grund der cytochemischen Reaktion nach J e e n e r und B r a c h e t gleich verhält wie diejenige in den durch Sulfonamid behandelten Zellen. Die Ribonucleinsäure ist unter der Wirkung des Sulfonamids irgendwie verändert worden, und diese Änderung ist irreversibel und bleibt trotz der Enthemmung durch ein Antisulfonamid bestehen. Die chemische Veränderung der Ribonucleinsäure würde also darin bestehen, daß sich das Sulfonamid analog vom Trypaflavin oder Stilbamidin direkt mit der Ribonucleinsäure verbindet. Durch diese Blockierung der Ribonucleinsäure würde der cytostatische Effekt erfolgen. Damit hätten wir zwei verschiedene Wirkungsmechanismen der Sulfonamide, was manchen scheinbaren Widerspruch erklären könnte. So den Unterschied in der Wirkung von schwachen und starken Sulfonamidkonzentrationen.

Eine schwache Sulfonamidmenge wirkt vor allem auf die Reaktionskette PAB-Folsäure-Purin, was zum Stillstand des Wachstums führt. Eine solche Hemmung wird durch PAB oder ein anderes Antisulfonamid leicht und vollständig aufgehoben.

Bei einer stärkeren Sulfonamidkonzentration würde sich nun neben der bekannten Wirkungsart das Sulfonamid direkt mit der Ribonucleinsäure verbinden. Untersuchen wir durch Sulfonamid gehemmte Wurzelspitzen, ergibt sich eine deutliche Reduktion der Zellteilungen, aber keine Mitosestörungen. Wir hätten also hier im Sinne von M a r q u a r d t eine unspezifische, physiologische Störung.

An der normalen Zellteilung ist sicher nicht nur der Kern allein, sondern auch das ihn umgebende Cytoplasma beteiligt. Aus der Tatsache, daß mit Adenosinmonophosphorsäure die Sulfonamidhemmung gut aufgehoben wurde, mögen zwei Schlüsse gezogen werden.



Erstens läßt dies vermuten, daß bei der normalen Zellteilung von der Ribonucleinsäure Adenosinmonophosphorsäure abgespalten wird und irgendwie im Zellteilungsmechanismus gebraucht wird. Zweitens kann durch die Bindung des Sulfonamids mit der Ribonucleinsäure aus letzterer die Adenosinphosphorsäure nicht mehr abgespalten werden und die Zellteilung ist gestört. Durch Hinzufügen von freier Adenosinmonophosphorsäure wird das Wachstum, das heißt die Zellteilung, wieder hergestellt, obwohl der blockierte Nucleinsäurekomplex bestehen bleibt.

Bei einer starken Sulfonamidkonzentration würde diese direkte Sulfonamidwirkung vorherrschen und durch diese verstärkte Bindung, die wahrscheinlich auch die Desoxyribonucleinsäure erfaßt, haben wir nicht nur eine Verminderung der Zellteilungszahl, sondern nun auch eine deutliche Störung der Mitosen mit den Erscheinungen der Chromosomenverklumpungen wie sie P e t e r s und F u l l e r beschrieben.

Im Zusammenhang mit dieser direkten Sulfonamidwirkung könnte auch erklärt werden, warum die einen Sulfonamide wie Dimethylbenzoyl-sulfanilamid bedeutend besser enthemmt werden können, während die durch Sulfanilamidothiazol erfolgte Hemmung schlecht oder nicht vollständig aufgehoben werden kann. Sulfanilamidothiazol würde sich also viel besser mit den Nucleinsäuren verbinden können, oder dieser Nucleinsäurekomplex wäre viel beständiger, wodurch der Sulfonamidschaden nicht mehr ganz aufgehoben werden kann.

Diese letzten Betrachtungen mögen zeigen, daß das Problem über die Sulfonamide noch nicht abgeschlossen ist und immer weitere Ausblicke eröffnet.

## ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit untersuchte den Einfluß der Sulfonamide und Antisulfonamide auf die höhere Pflanze, und zwar ihre Wirkung auf die Wurzel in steriler Organkultur.

1. Nach einer Einleitung über die Entwicklung dieser Vitamin- und Antivitaminforschungen wird die Technik der Organkultur besprochen. Da die in der Nährlösung verwendete Saccharose durch Vitamine (so unter anderen PAB und Biotin) verunreinigt war, wurde versucht, sie durch einen gereinigten Zucker zu ersetzen. Es zeigte sich aber, daß nur die verunreinigte Saccharose «Siegfried» ein optimales Wachstum der Wurzeln ermöglichte.