

180. Über den Stoffwechsel von Tuberkelbazillen.

3. Mitteilung¹⁾.

Der Einfluss primärer Amine auf das Wachstum von Tuberkelbazillen

von Hubert Bloch, H. Lehr und H. Erlenmeyer.

(27. IX. 45.)

Im Zusammenhang mit Arbeiten über den Stoffwechsel von Tuberkelbazillen interessierten wir uns für eine Reihe von Verbindungsgruppen, welche nach Angaben der Literatur die Vermehrung der Tuberkelbazillen *in vitro* beeinflussen. Die Untersuchungen, über die wir im folgenden berichten wollen, wurden unternommen, um einmal die erwähnten Angaben bei einheitlicher Versuchsanordnung in synthetischen Nährlösungen nachzuprüfen und zu vergleichen, um weiterhin bei Hemmstoffen Einblicke in den Charakter der Hemmung – Bakterizidie oder Bakteriostase – und womöglich deren Mechanismus zu gewinnen, ferner um, besonders bei bakterio-statischen Effekten, allfällige Zusammenhänge zwischen Hemmstoff-wirkung und Wuchsstoffbedürfnis der Bakterien zu erkennen; schliesslich konnten solche Untersuchungen auch als geeignet erscheinen, unsere Kenntnisse über die strukturechemischen Eigenschaften von Substanzen zu erweitern, welche in spezifischer Weise das Tuberkelbazillenwachstum zu hemmen vermögen.

Die Technik des Wachstumsversuchs wurde bereits in einer früheren Mitteilung ausführlich beschrieben²⁾. Sämtliche Zusätze (Hemmungssubstanzen, Wuchsstoffe) wurden in steriler Lösung vor der Beimpfung der Kulturflüssigkeit zugegeben, wasserlösliche Substanzen in Nährlösung gelöst, die übrigen in absolutem Äthylalkohol. In diesem Falle erhielten auch die Kontrollen den entsprechenden Alkoholzusatz (1 cm³ auf 50 cm³ Nährlösung). Die in den Tabellen angegebenen Konzentrationen (Mol im Liter) entsprechen den Endkonzentrationen in 50 cm³ Nährlösung. Als Bakterienmaterial diente ein boviner, Meerschweinchen-pathogener Stamm „*Vallée*“. Zur Kontrolle und zur Ausschliessung eines diesem Stamme eigentümlichen Effektes wurden immer wieder Stichproben mit verschiedenen andern, teils frisch isolierten bovinen und humanen Stämmen gemacht, die stets prinzipiell gleiche Resultate zeigten. Auch wurden Kontrolluntersuchungen angestellt, in denen die Hemmsubstanzen den verschiedensten Nährmedien zugefügt wurden (Glycerinbouillon, *Sauton*- und *Long*'sche Lösung, z. T. mit Zusätzen wie Serum, Aszites und Placentarextrakten, auf denen die Bakterien als Ober-

¹⁾ I. Mitt.: Helv. 27, 414 (1944); II. Mitt: H. Bloch, Schw. Z. Path. u. Bakt. 7 589 (1944). ²⁾ Schw. Z. Path. u. Bakt. loc. cit.

flächen-Schwimmkulturen wachsen, und schliesslich *Kirchner'sche* Nährböden zur Tiefenkultur der Bakterien), immer blieben die Ergebnisse unter sich gleich, wenn auch ab und zu, je nach dem verwendeten Medium, geringfügige quantitative Abweichungen zu beobachten waren.

Bereits in einer früheren Mitteilung¹⁾ wurde, unter Würdigung der Arbeiten von *Prigge*²⁾, auf die Schwierigkeiten hingewiesen, die sich aus dem variablen Wachstum der Tuberkelbazillenkulturen für die Beurteilung einer dieses Wachstum beeinflussenden Wirkung ergeben. Wir haben deshalb, um diesen Schwierigkeiten zu begegnen, nach dem Vorbild von *Prigge* eine Standard-Hemm-Substanz in unsere Versuche eingeführt, mit deren aus vielen Versuchen bekannten Wirkung diejenige neuer Substanzen in jedem einzelnen Versuch verglichen wird. Als Standardpräparat wählten wir das salicylsaure Natrium, dessen bakterio-statische Wirkung auf Tuberkelbazillen wir bereits früher festgestellt hatten. Auf Grund zahlreicher Versuche wurde ermittelt, dass eine 0,0002-molare Konzentration von salicylsaurem Natrium in der Nährlösung im Durchschnitt der Versuche noch eine totale Wachstumshemmung bewirkt. Dieser Hemmung geben wir den Wert 1, und entsprechend ihrem Hemmvermögen erhalten alle geprüften Substanzen eine „Salicylzahl“ (S.Z.), die dem Faktor entspricht, um welchen eine Substanz das salicylsaure Natrium in der genannten Konzentration in ihrem Hemmungsvermögen übertrifft.

Diese Methode vermeidet weitgehend die Unsicherheit in der Beurteilung eines Versuchsergebnisses, die sich aus der variablen Wachstumsintensität der Mikroorganismen ergibt, und erlaubt gleichzeitig, das Hemmungsvermögen eines Präparates zahlenmässig einfach auszudrücken.

Als „Totale Hemmung“ definieren wir eine Bakterienmenge, deren Trockengewicht nach 21-tägiger Bebrütung 5 mg pro 50 cm³ Nährflüssigkeit nicht übersteigt.

Im folgenden berichten wir über Versuche zur Beeinflussung des Tuberkelbazillenwachstums durch primäre Amine cyclischer Verbindungen. Diese Versuche wurden in etwas anderem Zusammenhang begonnen; bei genauer Durchsicht der Literatur fanden wir jedoch, dass bereits *Kuroya*³⁾ die Wachstumswirkung ähnlicher Verbindungen untersucht hat und dabei unter einer Reihe primärer Amine im p-Toluidin die wirksamste Hemmsubstanz fand. Zur Ergänzung und zur Ermittlung der Spezifität dieser Hemmwirkung haben wir die in der folgenden Tabelle aufgeführten 37 Amine im Wachstumsversuch ausgetestet.

¹⁾ Schw. Z. Path. u. Bakt. loc. cit.

²⁾ R. *Prigge*, Klin. Wschr. **19**, 1273 (1940); **20**, 633 (1941).

³⁾ M. *Kuroya*, Japan. exp. Med. **7**, 255 (1929).

Tabelle 1¹⁾.

Nr.	Verbindung	S. Z.
1	Anilin	1
2	o-Toluidin	1
3	m-Toluidin	∅
4	p-Toluidin	27
5	p-Chloranilin	6
6	p-Bromanilin	∅
7	p-Aminophenol	5
8	p-Anisidin	12
9	p-Phenetidin	80
10	p-Aminodiphenyläther-Hydrochlorid	40
11	p-Amino-acetophenon	∅
12	o-Aminobenzoesäure	∅
13	m-Aminobenzoesäure	∅
14	p-Aminobenzoesäure	0,5
15	p-Aminobenzoesäure-methylester	5
16	p-Aminobenzoesäure-äthylester	40
17	p-Aminophenoxy-essigsäures Natrium	∅
18	p-Aminophenyl-oxamidsäures Natrium	5
19	Xylidin-1 : 3 : 4	10
20	Xylidin-1 : 2 : 4	30
21	2,4-Diaminotoluol	5
22	Sulfanilsäure-amid	∅
23	Sulfathiazol	5
24	p-Aminobenzol-sulfonyl-thioharnstoff	1
25	α-Naphtylamin	4
26	β-Naphtylamin	80
27	1-Amino-2-methylnaphtalin-Hydrochlorid	∅
28	1-Amino-4-methylnaphtalin	∅
29	1,2-Naphtylendiamin	∅
30	6-Aminotetralin-Hydrochlorid	40
31	5-Aminohydrinden-Hydrochlorid	70
32	8-Aminochinolin	10
33	1-Amino-naphtalin-6-sulfonamid	∅
34	4-Amino-naphtalin-6-sulfonamid	∅
35	5-Aminothionaphten	60
36	2-Amino-4,5,6,7-tetrahydrobenz-thiazol-Hydrochlorid	∅
37	4,4'-Diaminodiphenylsulfon	1

∅ bedeutet, dass bis hinab zu einer Konzentration von 0,001 Mol/L keine Hemmung erfolgte.

¹⁾ Die Herstellung einiger der angegebenen Verbindungen verdanken wir den Herren R. Glaser, J.-P. Jung, H. Schulthess und K. Vogler.

In dieser Tabelle der auf das Wachstum der Tbc-Bazillen hemmend wirkenden Derivate primärer aromatischer Amine ist auch die p-Aminobenzoensäure aufgeführt, die in schwächeren Konzentrationen das Wachstum der Tuberkelbazillen unbeeinflusst lässt oder eventuell fördert. Hemmend wirken auch, wie zahlreiche Autoren festgestellt haben, die Derivate der strukturähnlichen p-Aminobenzol-sulfonsäure. Da sich Carbonsäuren und Sulfonsäuren bei einer Reihe von anderen Mikroorganismen in ihrer Wirkung auf das Wachstum antagonistisch verhalten, war es interessant, die gegenseitige Beeinflussung dieser beiden Verbindungen bei Tuberkelbazillen zu untersuchen, wo, wie erwähnt, jede der beiden Substanzen einzeln dem Substrat in einer gewissen Menge zugesetzt, als Hemmstoff wirken kann. Das Ergebnis dieses Versuchs geht aus der folgenden Tabelle hervor:

Tabelle 2.

Sulfathiazol Mol/L	p-Amino- benzoensäure Mol/L	Gewachsene Bakt.- Trockengewicht in mg/50 cm ³ Nähr- lösg. nach 21-täg. Bebrütg.
10×10^{-5}	—	6
5×10^{-5}	—	6
$2,5 \times 10^{-5}$	—	9
10×10^{-5}	2×10^{-6}	10
5×10^{-5}	2×10^{-6}	25
$2,5 \times 10^{-5}$	2×10^{-6}	132
—	2×10^{-6}	219
—	—	347
4×10^{-5}	—	5
4×10^{-5}	2×10^{-6}	236
4×10^{-5}	1×10^{-6}	212
4×10^{-5}	5×10^{-7}	181
4×10^{-5}	$2,5 \times 10^{-7}$	147
4×10^{-5}	$1,25 \times 10^{-7}$	23
4×10^{-5}	$0,6 \times 10^{-7}$	8
—	—	248

Die bekannte Aufhebung der Sulfanilamidwirkung durch p-Aminobenzoensäure lässt sich also auch bei Tuberkelbazillen nachweisen.

In vielen Fällen wurde geprüft, ob die Wachstumshemmung dieser Amine auf eine Bakterizidie oder eine Bakteriostase zurückzuführen sei, indem die Mikroorganismen nach 3-wöchiger Inkubation in hemmstoffhaltiger Lösung auf einen Inhibitor-freien Nähr-

boden überimpft wurden. Aus der Tatsache, dass sie sich sofort normal entwickelten, und dass die Bakterienatmung, im *Warburg*-Apparat gemessen, unbeeinflusst bleibt, darf auf einen bakterio-statischen Effekt geschlossen werden¹⁾.

Der *Ciba A.G.* in Basel danken wir für mannigfache Unterstützung dieser Arbeiten.

Basel, Hygienisches Institut und Anstalt für
Anorganische Chemie der Universität.

181. Über den Stoffwechsel von Tuberkelbazillen.

4. Mitteilung²⁾.

Der Einfluss von 1,2-Diketonen auf das Wachstum von Tuberkelbazillen

von Hubert Bloch, H. Lehr, H. Erlenmeyer und K. Vogler.

(27. IX. 45.)

Nachdem in der vorangehenden Mitteilung über die Wachstumswirkung primärer Amine auf Tuberkelbazillen berichtet wurde, soll hier eine andere Verbindungsgruppe besprochen werden, von der aus der Literatur ebenfalls eine wachstumshemmende Wirkung bekannt ist; es sind dies die 1,2-Diketone vom Typus des Diacetyls.

Als erster erwähnte *Jalander*³⁾ Diacetyl in Verbindung mit Tuberkelbazillen. Er destillierte die Substanz aus finnischem Holz-teer, dem in der Volksmedizin eine Heilwirkung bei Tuberkulose zugeschrieben wird, und stellte eine bakterizide Wirkung gegenüber verschiedenen Mikroorganismen, u. a. auch Tuberkelbazillen, fest. *Jalander's* im übrigen nur sehr summarische Mitteilung blieb nicht unbestritten. *Hano*⁴⁾ untersuchte die Substanz im Hinblick auf eine eventuelle therapeutische Verwendbarkeit und fand ihr bakterizides Vermögen im Vergleich mit ihrer allgemeinen Giftigkeit als viel zu schwach. *Baumann*⁵⁾, der, wiederum mit einer andern Technik, *Jalander's* Angaben nachprüfte, konnte lediglich den wachstumshemmenden Einfluss bestätigen, fand jedoch keine bakterizide Wirkung.

Trotz seiner geringen Wirksamkeit beansprucht Diacetyl in Anbetracht seines physiologischen Vorkommens ein gewisses Interesse, und ausserdem war zu untersuchen, ob diese von verschiedenen

¹⁾ Wir werden uns später in einer besonderen Arbeit eingehender mit diesen interessanten Tatsachen befassen. Ebenso erfolgt die Diskussion der Ergebnisse später im Zusammenhang.

²⁾ III. Mitt.: *Helv.* **28**, 1406 (1945).

³⁾ *W. Y. Jalander*, *Arch. exp. Path. Pharmakol.* **180**, 628 (1936).

⁴⁾ *J. Hano*, *Bull. internat. Acad. pol. Sci., Cl. Méd.* **7/8**, 555 (1936).

⁵⁾ *E. Baumann*, *Klin. Wschr.* **17**, 382 (1938).