

3. An ausfallendem Strontiumsulfat wird Radium in ähnlicher Weise, wenn auch nicht so intensiv wie an BaSO_4 , adsorbiert. An ausfallendem Gips bleibt die Mitfällung aus.

4. Bei der teilweisen Auflösung von Bariumsulfat, welches Spuren von Radiumsulfat gelöst enthält, geht nur das Bariumsulfat in der Form von Hydrogensulfat in Lösung, während das freigelegte Radium praktisch vollständig vom darunter befindlichen Bariumsulfatkristall aufgenommen wird. Auf diese Weise kann eine einfache Anreicherung des aufgenommenen Radiums erreicht werden.

Laboratorium für anorganische Chemie,
Eidg. Technische Hochschule, Zürich.

236. Metallionen und Resistenzbildung bei Tbc-Kulturen II¹⁾.

Metallionen und biologische Wirkung, 27. Mitteilung²⁾

von W. Roth, B. Prijs und H. Erlenmeyer.

(25. IX. 54.)

Bei der Einwirkung von Isonicotinsäurehydrazid (INH) auf Tbc-Kulturen zeigte es sich, dass die bei einer Ablesung nach 10 Tagen noch vorhandene starke Aktivität des INH – eine Konzentration von weniger als $m/500\,000$ bewirkt totale Wachstumshemmung – bei der Ablesung nach 21 Tagen stark abgesunken ist. Die total hemmende INH-Grenzkonzentration liegt dann bei über $m/5000$. Für die Deutung dieses Phänomens sind zwei Faktoren zu berücksichtigen, einerseits die Unbeständigkeit des INH in den verwendeten Nährlösungen³⁾ bei der Versuchstemperatur von 37° , und andererseits die Fähigkeit der Tbc-Kulturen, gegen die INH-Wirkung eine Resistenz auszubilden.

Um abzuklären, in welchem Umfang eine echte Resistenzbildung für den bei der 21-Tage-Ablesung gegenüber der 10-Tage-Ablesung festzustellenden Wirkungsverlust verantwortlich ist, haben wir folgende Versuche unternommen.

Zur Ermittlung des durch chemische Zersetzung des INH bei unseren Versuchsbedingungen verursachten Wirkungsverlustes wurden 4 Reihen von je 6 Röhren *Kirchner-Nährlösung* mit INH versetzt, so dass die INH-Konzentration in jeder Reihe von $m/5000$ bis $m/10\,000\,000$ variierte. Nun wurde eine Reihe mit Tbc, Stamm *Vallée*, beimpft und nach 10 Tagen die total hemmende INH-Grenzkonzentration ermittelt; die drei weiteren Reihen wurden dagegen erst nach 4-, 8- bzw. 16tägiger Aufbewahrung bei 37° beimpft⁴⁾. Auf Grund der jeweils nach 10 Tagen Bebrütung erfolgten Ablesung

¹⁾ I: H. Erlenmeyer, S. Fallab, B. Prijs & W. Roth, *Helv.* **37**, 636 (1954).

²⁾ 26. Mitt.: M. Häring, B. Prijs & H. Erlenmeyer, *Helv.* **37**, 1339 (1954).

³⁾ Siehe z. B. R. Bönicke & W. Reif, *Naturwiss.* **40**, 606 (1953).

⁴⁾ Vgl. R. Knox, M. B. King & R. C. Woodroffe, *Lancet* **263**, 854 (1952).

konnte so die Wirksamkeit von 4, 8 und 16 Tage alten INH-haltigen Kulturlösungen ermittelt werden (s. Tab. 1).

Tabelle 1.

Beimpfung	INH					
	m/5000	m/20000	m/50 000	m/100 000	m/500 000	m/1 Mill.
sofort	–	–	–	–	–	–
nach 4 Tagen . . .	–	–	–	–	–	±
nach 8 Tagen . . .	–	–	+	+/++	++	++
nach 16 Tagen . .	–	++	++	++	++	++

Es zeigt sich, dass bei der sofortigen Beimpfung INH in 10 Tagen noch bei einer Konzentration von m/1 Mill. wachstumshemmend wirkt, während bei der nach 16 Tagen beimpften Konzentrationsreihe nur noch die ursprünglich 1/5000-molare INH-Lösung wirksam ist.

Für die in normalen Kulturversuchen nach dem 10. Tage zu beobachtende Abnahme der Hemmwirkung von INH-Lösungen sind aber, wie die INH-Resistenz von aus solchen Lösungen nach 21 Tagen isolierten Stämmen zeigt (vgl. Tabelle 4) und wie aus den folgenden Versuchen zu entnehmen ist, andere Faktoren von Bedeutung.

Es wurde mit *Kirchner*-Nährlösung wie oben eine INH-Konzentrationsreihe hergestellt und sofort mit *Tbc*, Stamm *Vallée*, beimpft. Um nun die INH-Konzentration während der Versuchsdauer mit Sicherheit aufrechtzuerhalten, d. h. eine Wirkung der INH-Zersetzung weitgehend auszuschalten, wurde in jedes Röhrchen 6mal nach je 2 Tagen, d. h. am 2., 4., 6., 8., 10. und 12. Tage, die ursprünglich angesetzte INH-Menge erneut zugesetzt. Die Ablesung erfolgte am 21. Tage, d. h. 10 Tage nach der letzten INH-Zugabe. Es zeigte sich, dass unter diesen Bedingungen auch die jeweils mit m/5000 INH beschickte Lösung keine totale Wachstumshemmung mehr bewirkt (Tab. 2).

Tabelle 2.

Tbc-Stamm *Vallée*, *Kirchner*-Nährlösung.

Jeweils erneute Zugabe der anfänglich zugesetzten INH-Menge am 2., 4., 6., 8., 10. und 12. Tag, Ablesung nach 3 Wochen. Kontrollreihe ohne wiederholte INH-Zugabe.

	m/5000	m/20000	m/50 000	m/100 000	m/200 000	m/500 000	m/ 1 Mill.
Mehrmaliger Zusatz . . .	±	+	+	+	++	++	++
Kontrollreihe .	+	+	++	++	++	++/+++	+++

Wäre für die Wirkungsabnahme nur die INH-Zersetzung und nicht die Resistenzbildung massgebend, so hätte bei diesem Versuch auch noch eine INH-Konzentration von m/1 000 000 wirksam sein sollen (vgl. Tab. 1).

Besonders auffallend war sodann eine Beobachtung, über die wir bereits früher berichtet hatten, dass nämlich ein Zusatz von m/1000 Co⁺⁺ zu *Tbc*-Kulturen in *Kirchner*-Milieu genügt, um die Ausbildung

einer Resistenz gegenüber INH zu unterdrücken¹⁾. Wir haben entsprechende Versuche nun auch mit Cu^{..} durchgeführt, wobei sich zeigte, dass auch Cu^{..} in höherer Konzentration die Resistenzbildung verhindern kann (Tab. 3).

Tabelle 3.Tbc-Stamm H₃₇R_v, Kirchner-Nährlösung.

	Total hemmende Grenzkonzentration	
	Nach 10 Tagen	Nach 21 Tagen
INH	< m/500000	m/5000
INH + Cu ^{..} -m/20000 . .	< m/500000	m/5000
INH + Cu ^{..} -m/5000 . . .	< m/500000	m/200000
INH + Cu ^{..} -m/3000 . . .	< m/500000	< m/500000

Kontrollversuche zeigten, dass Cu^{..} allein in den angewendeten Konzentrationen keine wachstumshemmende Wirkung aufweist.

Eine Resistenzbildung, die durch die Einwirkung eines bestimmten Stoffes ausgelöst wurde, ist zumeist auch mit einem Unempfindlichwerden der Kultur gegenüber strukturchemisch verwandten Stoffen verbunden.

Tabelle 4.

Tbc, Kirchner-Nährlösung, Ablesung nach 10 Tagen

Tbc-Stamm	Hemmstoff	m/ 5000	m/ 20000	m/ 50000	m/ 100000	m/ 200000	m/ 400000
Normaler <i>Vallée</i>	INH	-	-	-	-	-	-
	Picolinsäure- hydrazid	-	-	-	±	+	++
	Thiazol-2-carbon- säurehydrazid	-	-	-	-	-	±
INH-resisten- ter <i>Vallée</i>	INH	+ / + +	++	++	++	++	
	Picolinsäure- hydrazid	++	++	++	++	++	++
Thiazol-2-carbon- säurehydrazid	Thiazol-2-carbon- säurehydrazid	++	++	++	++	++	++
		++	++	++	++	++	++
Picolinsäure- hydrazid-resi- stenter <i>Vallée</i>	INH	++	++	++	++	++	++
	Picolinsäure- hydrazid	++	++	++	++	++	++
	Thiazol-2-carbon- säurehydrazid	++	++	++	++	++	++
Thiazol-2-car- bonsäure- hydrazid-resi- stenter <i>Vallée</i>	INH	+	+	+	+	+	+
	Picolinsäure- hydrazid	+	+	+	+	+ / + +	++
	Thiazol-2-carbon- säurehydrazid	+	+	+	+	+	+ / + +

¹⁾ W. Roth & H. Erlenmeyer, Helv. 37, 95 (1954).

Es war daher von Interesse, die INH-Resistenz von Tbc-Kulturen in diesem Sinne zu charakterisieren.

Als strukturverwandt mit INH kann das mit INH isomere Picolinsäurehydrazid und das mit letzterem isostere Thiazol-2-carbonsäurehydrazid bezeichnet werden. Beide Verbindungen sind tuberkulostatisch wirksam, wenn auch schwächer als INH¹⁾. Die Versuche zeigten, dass das Wachstum einer gegen eine dieser drei Verbindungen resistent gewordenen Tbc-Kultur auch von den beiden anderen nicht mehr gehemmt wird (Tab. 4).

Weiterhin zeigte es sich, dass Kulturen eines *Vallée*-Stamms, die gegenüber Thiophen-2-carbonsäure-hydrazid bzw. gegenüber o-Oxybenzal-INH resistent geworden sind, auch gegenüber INH keine Empfindlichkeit mehr aufweisen.

Zusammenfassung.

Es wurden Versuche unternommen, um die Auswirkung der Zersetzung von INH in einer Nährlösung auf das nach 10 Tagen einsetzende Wachstum von Tbc-Kulturen abzuklären. Weiterhin zeigte sich, dass Cu-Ionen die Resistenzbildung von Tbc-Kulturen gegenüber INH verhindern. Die INH-Resistenz bedingt auch eine Resistenz gegenüber INH-ähnlichen Verbindungen.

Universität Basel,
Hygienische Anstalt und Anstalt für Anorganische Chemie.

237. Reaktionen mit ¹⁵N.

XV. Zur Bildung von Phenyl-naphtyl-carbazol-carbonsäure aus 2,3-Oxynaphtoesäure und Phenylhydrazin

von Klaus Clusius und Max Barsh.

(29. IX. 54.)

Verschiedene unter Austritt von Ammoniak verlaufende Ringschlüsse, bei denen ein Stickstoff enthaltender heterocyclischer Ring neu entsteht, lassen sich formal auf das intermediäre Auftreten von ω, ω' -Diaminen zurückführen. Falls dabei die eine Aminogruppe an einer aliphatischen Kette haftet, die andere Aminogruppe aber bereits unmittelbar an ein cyclisches System gebunden ist, wird nur die letztere zum Aufbau des heterocyclischen Ringes \uparrow herangezogen, die aliphatisch gebundene Aminogruppe dagegen quantitativ als Ammoniak abgestossen. Diese Regel bestätigt sich bei der Synthese des

¹⁾ H. Erlenmeyer, S. Fallab, B. Prijs & W. Roth, Helv. **37**, 636 (1954).