

## VERSUCHE ZUR ENTDECKUNG NEUER FUNGISTATIKA—I PHENOL-DERIVATE

TIBOR ZSOLNAI,

Das hygienische Institut der Medizinischen Universität von Debrecen,  
Ungarn, Vorstand, Germany.

(Received 18 March 1960)

**Abstract**—The fungical action of 260 phenol derivatives on a variety of fungi incubated in various liquid and solid media. Information concerning the mode of action of the most active members was obtained by determining the influence of added substances and of pH on the killing action. The fungi were protected by the addition of serum proteins as well as by a variety of lipids. It was concluded that these phenols do not inhibit any one particular biochemical process but have a non-specific denaturing action on the cell wall.

DIE durch verschiedene menschenpathogene Pilzarten verursachten Krankheiten nehmen eine wichtige Stelle in der Menschenpathologie an und ihr klinisches Vorkommen in der Form von inneren und äusseren Mykosen ist ziemlich verbreitet.

Der Schutz ihnen gegenüber, bzw. die Heilung der entwickelten Krankheiten ist zurzeit noch nicht erfolgreich genug—trotz dem Umstand, dass im Laufe der vorigen Jahrzehnte verhältnismässig umfangreiche Untersuchungen unternommen wurden im Interesse der Entdeckung neuer Fungistatika von ausreichender Wirkung, und dass diesbezügliche Forschungen in unseren Tagen in immer grösseren Umfange geführt werden (siehe die Literatur<sup>1–60</sup> in Bezug auf die fungistatische Wirkung der Phenol-Derivate).

Eben deshalb haben wir entschlossen, die *in vitro* ausgeübte fungistatische Wirkung einer grossen Anzahl von Verbindungen zu untersuchen, und die Abhängigkeit ihrer fungistatischer Wirkung von ihrer chemischen Struktur zu erforschen, und zwar zu dem Zwecke, dass wir die während unserer Untersuchungen erzielten Resultate und Erfahrungen im Laufe unserer folgenden Forschungen auf theoretischer Linie zur Entdeckung weiterer Fungistatika verwenden mögen, andererseits aber im Interesse der klinischen Therapie von Dermatomykosen anwenden können.

Im Laufe unserer Forschungen wurde die fungistatische Wirkung der zu den verschiedensten Gruppen gehörenden Verbindungen (so auch die der Phenol-Derivate) auf menschenpathogene und auch auf apathogene Pilzstämmen sowohl auf flüssigem als auch auf festem Nährboden untersucht. Die Mehrzahl der Verbindungen hat Verfasser selbst mittels der in der chemischen Fachliteratur bekannten Methoden synthetisiert; eine kleinere Anzahl derselben stand ihm dagegen als Handelsprodukt von “pro analysi”, Reinheitsgrad zur Verfügung.

### UNTERSUCHUNGSMETHODE

Für unsere Experimente haben wir das durch Uri und Mitarbeiter<sup>62</sup> für Pilz-Züchtung hervorragend bewährt gehaltene Maische-Kulturmedium gebraucht.

Die Herstellung des Nährbodens erfolgte folgendermassen: Zu 1 kg fein gemahlter gemischter Gerste wurde 11 l. Brunnenwasser gegeben und an 45 °C Temperatur durch 30 Minuten fortwährend umgerührt. Den Fortschritt der Zuckerbildung haben wir durch Jod-Probe kontrolliert; dann wurde die Temperatur sehr langsam, ungefähr während 45 Minuten stufenweise bis 72 °C erhöht. Als die Jod-Probe sich als negativ erwies, wurde das Gemisch nach Bewahren der Temperatur für weitere 15 Minuten noch an 72 °C gründlich gekocht—im Interesse der Vernichtung der Zuckerbildung verursachenden Enzyme—dann filtriert und durch zwei folgende Tage an 100 °C sterilisiert, endlich durch 5 Tage sich setzen gelassen. Danach wurde das Gemisch durch Papiersieb durchgeseiht, auf pH = 6,0–6,2 eingestellt und dann sterilisiert.

Der so gewonnene Maische-Nährboden wurde mit 3% Agar in der Form eines festen "Maische-Agar-Nährbodens" oder nach Zugabe von 56 °C inaktivisierten Rinderserums als "flüssiger Serum-maische-Nährboden" angewandt.

Das pH sowohl des Maische-Agars, wie auch des Serum-Maische-Nährbodens betrug 6,0–6,2.

Die 2%-ige alkoholische oder wässrige Lösung der untersuchten Verbindungen wurde mit Maische-Nährboden auf zehnfaches Volumen verdünnt. Aus den so gewonnenen 0,2%-igen Lösungen, homogenen Suspensionen oder Emulsionen ausgegangen wurden die auf flüssigem Serum-Maische-Nährboden vorgenommenen Versuchen mit den üblichen Serien-verdünnungsmethode durchgeführt. Die untersuchte niedrigste Verdünnung der Verbindungen war 1:5000. Das Inoculum bildete je ein Tropfchen einer Sporen-Suspension, welche aus der zehn-tägigen auf schiefem Maische Agar-Nährboden gewachsenen Kultur der zu den Versuchen gebrauchten Pilzstämmen mittels 10 ml steriler physiologischer Kochsalz-Lösung gewonnen wurde.

Die Pilzstämmen, welche zu den auf flüssigem Nährboden ausgeführten Versuchen verwendet wurden, waren folgende:

- (1) *Penicillium simplicissimum*.
- (2) *Aspergillus niger*.
- (3) *Trichothecium roseum*.
- (4) *Candida albicans*.
- (5) *Achorion quinckeanum*.
- (6) *Trichophyton gypseum*.
- (7) *Epidermophyton Kaufman-Wolff*.

Die Inkubationszeit der Pilzstämmen von Nr. 1–4 war 5 Tage, die der Nr. 5–7 aber 10 Tage. Temperatur: 30 °C.

Bei der Auswertung der Ergebnisse haben wir für eine Grenzverdünnung von fungistatischer Wirkung der untersuchten Verbindungen jene Konzentration genommen, worin nach Verlauf der Inkubationszeit *keine Spur des Wachstums* der Pilze mehr zu erfahren war.

Die in der Tabellen stehenden Ziffern bezeichnen die Reziprokwerte jener Verdünnung der einzelnen Verbindungen, welche zur *vollkommenen Entwicklungshemmung* führen.

Insofern die einzelnen Verbindungen in den im Laufe der Versuchen angewandten niedrigsten Verdünnung (d.h. in 1:5000) nur eine teilweise Entwicklungshemmung herbeiführen konnten, wurde diese hemmende Wirkung noch bezeichnet. Die Art der Bezeichnung in den Tabellen ist: (5000). Eine *teilweise* Entwicklungslähmung, die

sich bei einer grösseren Verdünnung als 1:5000 noch eventuell zeigte, wurde nicht mehr in Betracht genommen, sondern für volles Wachstum angesehen. Wir betrachteten eine Verbindung als unwirksam, wenn sie in der angewandten niedrigsten Verdünnung (also in 1:5000) keine fungistatische Wirkung hat. Wir bezeichneten die Unwirksamkeit der Verbindungen in den Tabellen mit dem folgenden Zeichen: “—”

Aus jeden Konzentrationen einer jeden Verbindung haben wir innerhalb einer Versuchsserie einzeln drei Parallelen angewandt und jede Versuchsserie dreimal bis viermal reproduziert. Die erzielten Ergebnisse haben sowie bei den einzelnen Parallelen, wie auch bei den zu verschiedenen Gelegenheiten eingestellten identischen Versuchsserien *praktisch eine gute Übereinstimmung* gezeigt—abgerechnet eine geringe Streuung und unbedeutende Abweichungen.

In feste Maische-Agar-Platten von 6,4 mm Dicke wurden Löcher von 10 mm Durchmesser eingebohrt. Danach wurde eine Menge von 0,5 ml der 0,2%-igen Lösung, homogenen Suspension oder Emulsion der untersuchten Verbindungen in die Löcher eingemassen. Diese Lösungen, Suspensionen oder Emulsionen wurden so dargestellt, dass wir eine Menge von 0,5 ml der 2%-igen alkoholischen oder wässrigen Lösung der Verbindungen zu 4,5 ml aufgeschmolzenem Maische-Agar-Nährboden gaben und gut vermischten.

Die Menge der untersuchten Verbindung in den Löchern der Agarplatte betrug so je 1,0 mg, der Grad ihrer Anfangskonzentration 1:500, welche Konzentration durch die Diffusion in dem umgebenden Nährboden immer mehr abnahm; demgegenüber erhöhte sich die in dem umgebenden Nährboden anwesende Konzentration der Verbindungen auf parallele Weise.

Nach der Erstarrung des “chemikalischen Agars” in den gebohrten Löchern des Nährbodens wurden die Kulturmedien enthaltenden Agar-Platten mit einer Sporen-Suspension eingimpft, welche aus der zehn-tägigen auf schiefem Maische-Agar-Nährboden gewachsenen Kultur der zu den Versuchen gebrauchten Pilzstämme mittels 10 ml steriler physiologischer Kochsalz-Lösung gewonnen wurde. Diese Sporen-Suspension wurde dann auf der Oberfläche des Nährbodens gleichmässig verteilt.

Die eingimpften festen Nährboden-Platten wurden dann an 30 °C Temperatur inkubiert und die erzielten Ergebnisse nach 5 Tagen Inkubationszeit abgelesen. Die Auswertung der Resultate erfolgte so, dass wir die Durchmesser der rundförmigen Gebiete, innerhalb welcher das Pilz-Wachstum gehemmt wurden, abgemessen und in mm ausgerechnet haben.

Die Ergebnisse der auf festem Nährboden vorgenommenen Versuchen, wie sie in den Tabellen stehen, sind durch die Ziffern ausgedrückt, welche die Durchmesser dieser wachstumsgehemmte Gebiete, dieser “Auslöschringe” bedeuten, in mm ausgedrückt.

In einer Petri-Schale wurden auf einmal drei bis fünf Verbindungen untersucht (als Ausnahme, bei Versuchen mit Verbindungen von besonders grosser Wirkung nur *eine* auf einmal); innerhalb einer Versuchsserie haben wir zwei Parallelen verwendet und jede Versuchsserie dreimal bis viermal wiederholt.

Die Werte beim Ablesen der einzelnen Parallelen innerhalb einer Serie, sowie jene Werte, die wir bei der wiederholten Einstellung dieselber Versuchsserien erhielten, stimmten miteinander ziemlich gut überein, abgerechnet eine Schwankung von  $\pm 10$ –15%, was bei Untersuchung dieses Typus gar nicht ungewöhnlich zu werten ist.

Die Pilzstämme, die zu den auf festem Nährboden angestellten Versuchen gebraucht wurden, waren folgende:

- (1) *Penicillium simplicissimum*.
- (2) *Aspergillus niger*.
- (3) *Trichothecium roseum*.
- (4) *Candida albicans*.
- (5) *Saccharomyces cerevisiae*.

Bei der für unsere Untersuchungen angewandten Methode haben sich bloss die verhältnismässig intensiv wirkenden Verbindungen als fungistatisch wirksam bewährt. Diejenige Verbindungen, welche bei Versuchen auf flüssigem Nährboden nicht einmal in der Konzentration von 1:5000 eine gänzlich (oder wenigstens teilweise) hemmende Wirkung auf das Wachstum der Pilze ausüben konnten und bei den Versuchen auf festem Nährboden ein wachstumsloses Gebiet von 10 mm Durchmesser nicht herbeiführen konnten, sich als inaktiv bewährten, und haben wir sie in der Tabellen mit dem Zeichen "—" gemerkt.

Bei der Übersicht der in den Tabellen angegebenen Ergebnisse wird in zahlreichen Fällen wohl auffallen, dass zwischen der Intensität der fungistatischen Wirkung, Welche dieselbe Verbindung auf denselben Pilzstamm einerseits auf flüssigem, andererseits auf festem Nährboden ausgeübt hatte, manchmal jedoch erhebliche Unterschiede vorkommen.

Die Ursache dieses Unterschiedes ist vor allem ein physikalisch-chemisches Problem; die Erörterung dieses Problems gehört nicht zur Zielsetzung dieser Mitteilung.

## ERGEBNISSE

Die bei der Untersuchung der fungistatischen Wirkung der Phenol-Derivate erhaltenen Resultate sind in Tabellen 1, 2 und 3 zusammengefasst. Die Zeichenerklärung dieser Tabellen s. bei der Untersuchungsmethode.

Jene von den 260 Phenol-Derivaten der Tabelle 1 und 2, welche in der Tabelle 3 nicht aufgeführt sind, übten auf festem Maische-Agar Nährboden keine fungistatische Wirkung auf die zu den Versuchen verwendeten fünf Pilzstämme aus.

TABELLE 1. DIE FUNGISTATISCHE WIRKUNG VON PHENOL-DERIVATEN AUF FLÜSSIGEM SERUM-MAISCHE NÄHRBODEN

Nr.	Verbindungen	<i>Penicillium simplicissimum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichothecium roseum</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Achorion quinc-keanum</i>	<i>Trichophyton gypseum</i>	<i>Epidermophyton Kaufman-Wolf</i>
	1. Alkyl-, Aryl-, Alkyloxy- und Alkoyl-Phenole							
F/2	2-Methyl-phenol	—	—	—	—	5000	5000	5000
F/3	3-Methyl-phenol	—	—	—	—	5000	5000	5000
F/4	4-Methyl-phenol	—	—	—	—	5000	5000	5000
F/5	2, 4-Dimethyl-phenol	—	—	(5000)	—	5000	5000	5000
F/6	3, 4-Dimethyl-phenol	—	—	(5000)	—	5000	5000	5000
F/7	2-i-Propyl-5-methyl-phenol	5000	5000	5000	—	5000	5000	5000
F/8	4-Hydroxy-diphenyl	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000
F/10	3-Benzoyloxy-phenol	(5000)	—	5000	5000	10 000	10 000	10 000
F/11	4-Benzoyloxy-phenol	—	—	5000	—	5000	5000	5000
F/12	3-n-Hexyloxy-phenol	5000	—	5000	5000	10 000	10 000	10 000
F/13	4-n-Hexyloxy-phenol	5000	—	5000	5000	5000	5000	5000
F/14	3-n-Octyloxy-phenol	—	—	5000	—	5000	5000	5000
F/15	4-n-Octyloxy-phenol	5000	—	5000	5000	5000	5000	5000
F/16	4-Propionyl-phenol	—	—	5000	—	5000	5000	5000

TABELLE 1—continued.

Nr.	Verbindungen	<i>Penicillium simplicis-</i> <i>simum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichot-</i> <i>hecium</i> <i>roseum</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Achorion quinc-</i> <i>keanum</i>	<i>Tricho-</i> <i>phyton</i> <i>gypseum</i>	<i>Epidermo-</i> <i>phyton</i> <i>Kaufman-</i> <i>Wolff</i>
<i>II. Die Halogen—Derivate des Phenols</i>								
F/17	2-Chlor-phenol	—	—	5000	—	5000	5000	5000
F/18	4-Chlor-phenol	10 000	5000	10 000	5000	10 000	10 000	10 000
F/19	4-Brom-phenol	10 000	5000	10 000	5000	10 000	10 000	10 000
F/20	2-Jod-4-chlor-phenol	10 000	10 000	10 000	10 000	25 000	25 000	25 000
F/21	2 : 4-Dijod-phenol	10 000	5000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000
F/22	2 : 6-Dibrom-4-chlor-phenol	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000
F/23	2 : 6-Dijod-4-chlor-phenol	10 000	10 000	10 000	10 000	25 000	25 000	25 000
F/24	2 : 4-Dibrom-6-chlor-phenol	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	25 000	25 000
F/25	2 : 4-Dijod-6-chlor-phenol	10 000	10 000	25 000	10 000	25 000	25 000	25 000
F/26	2 : 4, 6-Tribrom-phenol	10 000	5000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000
F/27	2 : 4, 6-Trijod-phenol	10 000	5000	10 000	5000	10 000	10 000	10 000
<i>III. Halogen-substituierte Alkyl-, Aryl-, Alkyl-oxy- und Alkoyl-Phenole</i>								
F/28	2-Jod-4-methyl-phenol	10 000	10 000	10 000	5000	10 000	10 000	10 000
F/29	6-Chlor-2 : 4-dimethyl- phenol	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000
F/30	6-Brom-2 : 4-dimethyl- phenol	10 000	5000	10 000	5000	10 000	10 000	25 000
F/31	6-Jod-2 : 4-dimethyl-phenol	5000	5000	10 000	5000	10 000	10 000	10 000
F/32	2 : 6-Dichlor-4-methyl- phenol	10 000	10 000	10 000	10 000	25 000	25 000	25 000
F/33	2 : 6-Dibrom-4-methyl- phenol	10 000	10 000	10 000	5000	25 000	10 000	25 000
F/34	2 : 6-Dijod-4-methyl-phenol	10 000	10 000	10 000	10 000	25 000	25 000	25 000
F/35	2 : 4-Dijod-5-methyl-phenol	5000	10 000	10 000	5000	25 000	10 000	25 000
F/36	2 : 4 : 6-Tribrom-5-methyl- phenol	10 000	10 000	25 000	10 000	25 000	25 000	25 000
F/37	2 : 4-Dichlor-6-methyl- phenol	10 000	10 000	10 000	10 000	25 000	25 000	25 000
F/38	2 : 4-Dibrom-6-methyl- phenol	10 000	10 000	10 000	5000	25 000	10 000	25 000
F/39	2 : 4-Dijod-6-methyl-phenol	10 000	10 000	10 000	5000	25 000	10 000	25 000
F/40	2 : 6-Dichlor-3 : 4-dimethyl- phenol	10 000	10 000	10 000	10 000	25 000	25 000	25 000
F/41	2 : 6-Dibrom-3 : 4-dimethyl- phenol	5000	5000	25 000	10 000	25 000	25 000	25 000
F/42	2 : 6-Dijod-3 : 4-dimethyl- phenol	5000	5000	25 000	5000	25 000	10 000	25 000
F/43	2- <i>i</i> -Propyl-5-methyl-4-brom- phenol	5000	5000	10 000	—	25 000	25 000	25 000
F/44	3-Jod-4-hydroxy-diphenyl	(5000)	—	5000	5000	10 000	5000	5000
F/45	3 : 5-Dichlor-4-hydroxy- diphenyl	—	—	5000	—	5000	5000	5000
F/46	3 : 5-Dibrom-4-hydroxy- diphenyl	5000	—	5000	5000	10 000	10 000	10 000
F/48	2 : 6-Dibrom-3-benzyloxy- phenol	—	—	—	—	10 000	10 000	10 000
F/49	2 : 6-Dibrom-4-benzyloxy- phenol	—	—	—	—	(5000)	(5000)	(5000)
F/50	2 : 6-Dibrom-3- <i>n</i> -hexyloxy- phenol	—	—	—	—	5000	5000	5000
F/53	2-Brom-4-propionyl-phenol	5000	10 000	10 000	10 000	25 000	25 000	25 000
F/54	2-Jod-4-propionyl-phenol	—	—	(5000)	—	5000	5000	10 000
<i>IV. Unsubstituierte und substituierte mehrwertige Phenole</i>								
F/55	Pyrocatechin	—	—	—	—	10 000	10 000	10 000
F/57	Hydrochinon	—	—	—	—	10 000	10 000	10 000
F/58	Pyrogallol	—	—	—	—	25 000	25 000	25 000
F/62	4- <i>n</i> -Hexyl-resorzin	10 000	5000	10 000	—	10 000	10 000	10 000
F/64	Tetrabrom-pyrocatechin	—	—	—	—	5000	5000	5000
F/65	2 : 6-Dibrom-resorzin	5000	(5000)	10 000	—	25 000	25 000	25 000
F/67	2 : 6-Dibrom-5-methyl- resorzin	5000	—	5000	—	5000	5000	10 000
F/68	2 : 6-Dibrom-4- <i>n</i> -hexyl- resorzin	—	—	5000	—	5000	10 000	10 000
<i>V. Phenol-aldehyde</i>								
F/71	2-Hydroxy-benzaldehyd	5000	5000	10 000	5000	25 000	10 000	25 000
F/72	4-Hydroxy-benzaldehyd	—	—	—	—	5000	5000	5000
F/74	2-Hydroxy-5-brom- benzaldehyd	5000	5000	10 000	—	10 000	10 000	10 000
<i>VI. Phenol-carbonsäuren und ihre Ester</i>								
F/79	2-Hydroxy-5-jod- benzoesäure	—	—	—	—	5000	5000	5000

TABELLE 1—continued.

Nr.	Verbindungen	<i>Penicillium simplicis- simum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichot- hecium roseum</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Achorion quinc- keanum</i>	<i>Tricho- phyton gypseum</i>	<i>Epidermo- phyton Kaufman- Wolff</i>
F/80	2-Hydroxy-3 : 5-dijod- benzoesäure	—	—	5000	—	5000	5000	5000
F/83	3 : 5-Dijod-4-hydroxy- benzoesäure	—	—	—	—	5000	5000	5000
F/87	2-Hydroxy-benzoesäure- <i>n</i> - butyl-ester	—	—	(5000)	—	10 000	10 000	10 000
F/88	2-Hydroxy-benzoesäure- <i>n</i> - amyl-ester	—	—	—	—	10 000	10 000	10 000
F/89	2-Hydroxy-benzoesäure- <i>n</i> - hexyl-ester	—	—	—	—	10 000	10 000	10 000
F/90	2-Hydroxy-benzoesäure- phenyl-ester	—	—	5000	—	10 000	10 000	10 000
F/91	4-Hydroxy-benzoesäure- methyl-ester	—	—	—	—	5000	5000	5000
F/92	4-Hydroxy-benzoesäure- <i>n</i> - propyl-ester	5000	—	5000	—	10 000	10 000	10 000
F/93	4-Hydroxy-benzoesäure- <i>n</i> - butyl-ester	5000	—	5000	—	10 000	10 000	25 000
F/94	4-Hydroxy-benzoesäure- <i>n</i> - amyl-ester	—	—	(5000)	—	10 000	10 000	25 000
F/95	4-Hydroxy-benzoesäure- <i>n</i> - hexyl-ester	—	—	(5000)	—	25 000	10 000	25 000
F/96	2-Hydroxy-5-brom- benzoesäure-methyl-ester	(5000)	5000	5000	—	5000	10 000	10 000
F/97	2-Hydroxy-5-brom- benzoesäure- <i>n</i> -butyl-ester	—	—	—	—	5000	5000	10 000
F/98	2-Hydroxy-5-brom- benzoesäure- <i>n</i> -amyl-ester	—	—	—	—	5000	5000	5000
F/99	2-Hydroxy-5-brom- benzoesäure- <i>n</i> -hexyl-ester	—	—	—	—	(5000)	(5000)	(5000)
F/101	2-Hydroxy-5-jod- benzoesäure-methyl-ester	—	—	10 000	5000	10 000	10 000	10 000
F/102	3-Brom-4-hydroxy- benzoesäure-methyl-ester	—	—	5000	—	10 000	10 000	10 000
F/103	3-Brom-4-hydroxy- benzoesäure- <i>n</i> -propyl-ester	—	—	5000	—	25 000	25 000	25 000
F/104	3-Brom-4-hydroxy- benzoesäure- <i>n</i> -butyl-ester	—	—	5000	—	25 000	10 000	25 000
F/105	3-Brom-4-hydroxy- benzoesäure- <i>n</i> -amyl-ester	—	—	—	—	10 000	10 000	10 000
F/106	3-Brom-4-hydroxy- benzoesäure- <i>n</i> -hexyl-ester	—	—	—	—	10 000	10 000	10 000
F/107	3-Jod-4-hydroxy- benzoesäure- <i>n</i> -propyl-ester	—	—	5000	—	10 000	10 000	10 000
<i>VII. Naphtole und ihre Derivate</i>								
F/109	1-Naphtol	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000
F/110	2-Naphtol	10 000	10 000	10 000	5000	10 000	10 000	10 000
F/111	2-Hydroxy-1-naphtaldehyd	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000
F/112	2-Chlor-1-naphtol	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000
F/113	2-Brom-1-naphtol	10 000	5000	10 000	5000	25 000	25 000	25 000
F/114	1-Chlor-2-naphtol	10 000	10 000	10 000	10 000	25 000	10 000	25 000
F/115	1-Brom-2-naphtol	10 000	10 000	10 000	10 000	25 000	25 000	25 000
F/119	2 : 2'-Dihydroxy-1 : 1'- dinaphtyl-methan	—	—	—	—	5000	5000	5000
<i>VIII. Basischen Substituent enthaltende Phenole und Naphtole</i>								
F/120	2-Amino-phenol	10 000	10 000	10 000	10 000	25 000	25 000	25 000
F/121	4-Amino-phenol	—	—	—	—	25 000	25 000	25 000
F/122	4-Methylamino-phenol	—	—	—	—	25 000	25 000	25 000
F/124	2 : 4 : 6-Tribrom-3- diaethylamino-phenol	—	—	5000	—	5000	5000	5000
F/125	2 : 4-Diamino-phenol dihydrochlorid	—	—	—	—	5000	5000	5000
F/133	1-Diaethylamino-methyl-2- naphtol	—	—	—	—	5000	5000	5000
F/134	1-Di-( <i>n</i> -butyl)-amino- methyl-2-naphtol	—	—	—	—	5000	5000	5000
F/135	1-Piperidino-methyl-2- naphtol	—	—	—	—	5000	5000	5000
F/136	1-(2'-Hydroxy-benzyl)-2-(2'- hydroxy-phenyl)- imidazolin-(4 : 5)	5000	—	5000	10 000	10 000	10 000	10 000
F/137	1-(2'-Hydroxy-5'-brom- benzyl)-2-(2'-hydroxy-5- brom-phenyl)-imidazolin (4 : 5)	5000	—	5000	5000	10 000	5000	10 000
F/139	1-(2'-Hydroxy-benzyl)-2-(2'- hydroxy-phenyl)- benzimidazol	(5000)	—	5000	—	10 000	10 000	10 000

TABELLE 1—continued.

Nr.	Verbindungen	<i>Penicillium simplicissimum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichothecium roseum</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Achorion quinc-keanum</i>	<i>Trichophyton gypseum</i>	<i>Epidermophyton Kaufman-Wolff</i>
	<i>IX. Derivate von Hydroxy-azobenzolen</i>							
F/145	4-Hydroxy-azobenzol	(5000)	—	5000	—	5000	5000	5000
F/146	4-Hydroxy-3-methyl-azobenzol	—	—	(5000)	—	(5000)	(5000)	(5000)
F/149	4-Hydroxy-3-chlor-azobenzol	(5000)	—	10 000	5000	10 000	10 000	10 000
F/150	4-Hydroxy-3-methyl-4'-clor azobenzol	—	—	5000	—	5000	5000	5000
F/152	4-Hydroxy-3 : 4'-dichlor-azobenzol	—	—	5000	5000	10 000	10 000	10 000
	<i>X. Durch Schwefel-oder Methylen-Brücken vereinigte Di- und Polyphenole</i>							
F/178	2 : 2'-Dihydroxy-5 : 5'-dichlor-diphenyl-methan	—	—	—	—	5000	5000	5000
F/179	Poly-(2-hydroxy-5-chlor-phenyl-disulfid)	(5000)	—	5000	—	10 000	10 000	10 000
F/183	Poly-(2-hydroxy-5-chlor-phenyl-methan)	—	—	—	—	(5000)	(5000)	(5000)
	<i>XI. Phenolische Hydroxyl-Gruppe enthaltende sonstige Verbindungen</i>							
F/186	1 : 2 : 9-Trihydroxy-anthrazen	—	—	—	(5000)	5000	5000	5000
F/189	Stilböstrol	—	—	—	—	5000	5000	5000
F/202	Apomorphin hydrochlorid	—	—	—	—	5000	5000	5000
	<i>XII. Acetate von Phenol-Derivaten</i>							
F/207	1-Acetyloxy-4-chlor-benzol	10 000	—	10 000	(5000)	10000	10 000	10 000
F/208	1-Acetyloxy-2-i-propyl-5-methyl-benzol	5000	—	5000	—	5000	5000	5000
F/209	4-Acetyloxy-benzoesäure-n-propyl-ester	5000	—	5000	—	10 000	10 000	10 000
F/210	4-Acetyloxy-diphenyl	10 000	5000	10 000	5000	10 000	10 000	10 000
F/211	1-Acetyloxy-naphtalin	10 000	5000	10 000	(5000)	10 000	10 000	10 000
F/212	2-Acetyloxy-naphtalin	10 000	5000	10 000	—	10 000	10 000	10 000
F/213	1-Chlor-2-acetyloxy-naphtalin	10 000	10 000	10 000	5000	10 000	10 000	1 0000
	<i>XIII. Alkyl-äther von substituierten Phenolen</i>							
F/214	1-Benzyl-oxy-2-methyl-benzol	—	—	5000	—	5000	5000	5000
F/217	1-Benzyl-oxy-4-methyl-benzol	—	—	5000	—	5000	5000	5000
F/219	1-Allyloxy-2-i-propyl-5-methyl-benzol	—	—	—	—	5000	5000	10 000
F/222	1-Benzyl-oxy-2-i-propyl-5-methyl-benzol	—	—	—	—	5000	5000	5000
F/225	1-Allyloxy-4-chlor-benzol	—	—	10 000	—	10 000	10 000	10 000
F/227	1-Aethoxy-4-jod-benzol	—	—	(5000)	—	5000	5000	5000
F/230	1-Benzyl-oxy-2 : 4-dibrom-6-methyl-benzol	—	—	(5000)	—	5000	5000	5000
F/231	1-Aethoxy-2 : 4-dijod-benzol	—	—	5000	—	5000	5000	5000
F/232	1-Benzyl-oxy-2-jod-4-chlor-benzol	—	—	—	—	5000	(5000)	5000
F/237	1-Benzyl-oxy-2 : 6-dijod-4-chlor-benzol	—	—	(5000)	—	5000	5000	5000
F/239	1-Aethoxy-2 : 4, 6-trijod-benzol	—	—	5000	—	5000	5000	5000
F/240	4-Aethoxy-diphenyl	—	—	10 000	—	10 000	10 000	10 000
F/244	2 : 4-Diaethoxy-1-n-hexyl-benzol	—	—	—	—	5000	5000	5000
F/245	2 : 4-Di-( $\beta$ -hydroxy-aethoxy)-1-n-hexyl-benzol	—	—	—	—	5000	5000	5000
	<i>XIV. Alkyl-äther von Naphtolen und ihren halogen-substituierten Derivaten</i>							
F/246	1-Aethoxy-naphtalin	5000	(5000)	10 000	—	10 000	10 000	10 000
F/247	1-Allyloxy-naphtalin	—	—	10 000	—	10 000	10 000	10 000
F/248	1-n-Hexyloxy-naphtalin	—	—	5000	—	5000	5000	5000
F/252	2-Aethoxy-naphtalin	5000	—	10 000	—	10 000	10 000	10 000
F/253	2-( $\beta$ -Hydroxy-aethoxy)-naphtalin	(5000)	—	(5000)	—	5000	5000	5000
F/254	2-Allyloxy-naphtalin	—	—	10 000	—	10 000	10 000	10 000
F/255	2-n-Hexyloxy-naphtalin	—	—	5000	—	5000	5000	(5000)
F/259	1-Aethoxy-2-brom-naphtalin	—	—	10 000	—	10 000	10 000	10 000
F/260	2-Aethoxy-1-brom-naphtalin	—	—	5000	—	10 000	10 000	10 000

TABELLE 2. PHENOL-DERIVATE, WELCHE IN FLÜSSIGEM SERUM-MAISCHE NÄHRBODEN AUF JEDE UNTERSUCHTE PILZSTÄMME VOLLSTÄNDIG UNWIRKSAM SIND

F/1	Phenol	F/155	4-Hydroxy-3'-nitro-azobenzol-3-carbonsäure
F/9	2-Methoxy-phenol	F/156	2-Hydroxy-5-methyl-azobenzol
F/47	3:5-Dijod-4-hydroxy-diphenyl	F/157	2-Hydroxy-5-chlor-azobenzol
F/51	2:6-Dibrom-3- <i>n</i> -octyloxy-phenol	F/158	2-Hydroxy-5-methyl-4-chlor-azobenzol
F/52	2:6-Dibrom-4- <i>n</i> -octyloxy-phenol	F/159	2-Hydroxy-5:4'-dichlor-azobenzol
F/56	Resorzin	F/160	2:4-Dihydroxy-azobenzol
F/59	Phlorogluzin	F/161	2:4-Dihydroxy-5- <i>n</i> -hexyl-4'-chlor-azo-benzol
F/60	5-Methyl-resorzin	F/162	Chrysamin
F/61	5:5-Dimethyl-4:5-dihydro-resorzin	F/163	4-Phenylazo-1-naphtol
F/63	Phloridzin	F/164	1-Phenylazo-2-naphtol
F/66	2:6-Dijod-resorzin	F/165	2-Chlor-4-(4'-chlor-phenyl-azo)-1-naphtol
F/69	2:6-Dijod-4- <i>n</i> -hexyl-resorzin	F/166	4-Chlor-phenol-2-sulfonsäure-Na
F/70	Tribrom-phlorogluzin	F/167	Sulfosalicyl-säure
F/73	3-Methoxy-4-hydroxy-benzaldehyd	F/168	4-Hydroxy-diphenyl-3-sulfonsäure-Na
F/75	2-Hydroxy-benzoesäure	F/169	1-Naphtol-4-sulfonsäure-Na
F/76	4-Hydroxy-benzoesäure	F/170	2-Naphtol-6-sulfonsäure-Na
F/77	3:4:5-Trihydroxy-benzoesäure	F/171	1-Amino-2-naphtol-4-sulfonsäure
F/78	2-Hydroxy-5-brom-benzoesäure	F/172	1-Phenylazo-2-naphtol-6-sulfonsäure-Na
F/81	3-Brom-4-hydroxy-benzoesäure	F/173	2-Hydroxy-5-methyl-azobenzol-4'-sulfonsäure
F/82	3-Jod-4-hydroxy-benzoesäure	F/174	Brillant-gelb
F/84	2-Hydroxy-4-amino-benzoesäure	F/175	2:2'-Dihydroxy-diphenyl-disulfid
F/85	2-Hydroxy-4-dichloracetyl-amino-benzoesäure	F/176	2:2'-Dihydroxy-5:5'-dimethyl-diphenyl-disulfid
F/86	2-Hydroxy-benzoesäure-methyl-ester	F/177	2:2'-Dihydroxy-5,5'-dichlor-diphenyl-disulfid
F/100	2-Hydroxy-5-brom-benzoesäure-phenyl-ester	F/180	Poly-(2-hydroxy-phenyl-methan)
F/108	3-Hydroxy-4-amino-benzoesäure-methyl-ester	F/181	Poly-(2-hydroxy-3-methyl-phenyl-methan)
F/116	1:3-Dihydroxy-naphtalin	F/182	Poly-(2-hydroxy-5-methyl-phenyl-methan)
F/117	1:1'-Dihydroxy-2:2'-dinaphtyl	F/184	9-Anthron
F/118	2:2'-Dihydroxy-1:1'-dinaphtyl	F/185	10-Brom-9-anthron
F/123	3-Diaethylamino-phenol	F/187	2:2'-Dihydroxy-3:3'-di- <i>i</i> -propyl-5:5'-dijod-6:6'-dimethyl-diphenyl
F/126	1-(4'-Hydroxy-phenyl)-1-hydroxy-2-methylamino-aethan hydrochlorid	F/188	D:L-Thyroxin
F/127	1-(3'-Hydroxy-phenyl)-2-amino-propan hydrochlorid	F/190	$\alpha$ -Phenyl- $\beta$ -(3:5-dijod-4-hydroxy-phenyl)-propionsäure
F/128	1-(3':4'-Dihydroxy-phenyl)-1-hydroxy-2- <i>i</i> -propylamino-aethan hydrochlorid	F/191	Rosol-säure
F/129	6-Diaethylamino-methyl-2:4-dimethyl-phenol	F/192	Rubrophen
F/130	6-Di-( <i>n</i> -butyl)-amino-methyl-2:4-dimethyl-phenol	F/193	Phenolphthalein
F/131	6-Piperidino-methyl-2:4-dimethyl-phenol	F/194	Thymolphthalein
F/132	2:5-Di-(diaethylamino-methyl)-hydrochinon	F/195	Brom-thymol-blau
F/138	1-(4'-Hydroxy-benzyl)-2-(4'-hydroxy-phenyl)-imidazolin-(4:5)	F/196	Tetrabrom-phenolphthalein
F/140	1-(2'-Hydroxy-5'-brom-benzyl)-2-(2'-hydroxy-5'-brom-phenyl)-benzimidazol	F/197	Tetrajod-phenolphthalein
F/141	1-(4'-Hydroxy-benzyl)-2-(4'-hydroxy-phenyl)-benzimidazol	F/198	Kresol-rot
F/142	Salicyl-aldehyd-aminoguanidon nitrat	F/199	Eriochromcyanin R
F/143	5-Brom-salicyl-aldehyd-amino-guanidon nitrat	F/200	Fluorescein
F/144	4-Hydroxy-benzaldehyd-amino-guanidon nitrat	F/201	Eozin
F/147	4-Hydroxy-2-methyl-azobenzol	F/203	Haematoxylin
F/148	4-Hydroxy-2-methyl-5- <i>i</i> -propyl-azobenzol	F/204	7-Chlor-tetracyclin hydrochlorid
F/151	4-Hydroxy-2-methyl-4'-chlorazobenzol	F/205	5-Oxy-tetracyclin hydrochlorid
F/153	4-Hydroxy-azobenzol-3-carbonsäure	F/206	7-(4'-Chlor-phenyl-azo)-5-oxy-tetracyclin
F/154	4-Hydroxy-4'-nitro-azobenzol-3-carbonsäure	F/215	1-Aethoxy-4-methyl-benzol
		F/216	1-Allyloxy-4-methyl-benzol
		F/218	1-Aethoxy-2- <i>i</i> -propyl-5-methyl-benzol
		F/220	1- <i>n</i> -Hexyloxy-2- <i>i</i> -propyl-5-methyl-benzol
		F/221	1- <i>n</i> -Octyloxy-2- <i>i</i> -propyl-5-methyl-benzol



TABELLE 2—continued.

F/223	1-Aethoxy-4-chlor-benzol	F/238	1-Aethoxy-2:4:6-tribrom-benzol
F/224	1-( $\beta$ -Hydroxy-aethoxy)-4-chlor-benzol	F/241	4-Benzyl-oxy-diphenyl
F/226	1-Benzyl-oxy-4-chlor-benzol	F/242	4-Aethoxy-3:5-dibrom-diphenyl
F/228	1-Benzyl-oxy-2-jod-4-methyl-benzol	F/243	1:2-Dimethoxy-benzol
F/229	1-Aethoxy-2- <i>i</i> -propyl-5-methyl-4-brom-benzol	F/249	1- <i>n</i> -Octyl-oxy-naphtalin
F/233	1-Aethoxy-2:6-dijod-4-methyl-benzol	F/250	1- <i>n</i> -Dodecyl-oxy-naphtalin
F/234	1-Allyl-oxy-2:6-dijod-4-methyl-benzol	F/251	1-Benzyl-oxy-naphtalin
F/235	1-Benzyl-oxy-2:6-dijod-4-methyl-benzol	F/256	2- <i>n</i> -Octyl-oxy-naphtalin
F/236	1-Benzyl-oxy-2:4-dijod-6-methyl-benzol	F/257	2- <i>n</i> -Dodecyl-oxy-naphtalin
		F/258	2-Benzyl-oxy-naphtalin

TABELLE 3. DIE FUNGISTATISCHE WIRKUNG VON PHENOL-DERIVATEN AUF FESTEM MAISCHE-AGAR NÄHRBODEN

Nr.	Verbindungen	<i>Penicillium simplicissimum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichothecium roseum</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
F/8	4-Hydroxy-diphenyl	15	20	17	10	10
F/12	3- <i>n</i> -Hexyl-oxy-phenol	16	10	15	13	12
F/13	4- <i>n</i> -Hexyl-oxy-phenol	17	17	12	16	12
F/20	2-Jod-4-chlor-phenol	23	25	27	23	23
F/21	2:4-Dijod-phenol	25	25	30	25	22
F/22	2:6-Dibrom-4-chlor-phenol	25	27	30	20	22
F/23	2:6-Dijod-4-chlor-phenol	23	37	37	25	23
F/24	2:4-Dibrom-6-chlor-phenol	30	36	32	32	27
F/25	2:4-Dijod-6-chlor-phenol	30	36	32	35	27
F/26	2:4:6-Tribrom-phenol	35	37	53	30	32
F/27	2:4:6-Trijod-phenol	17	21	20	25	17
F/30	6-Brom-2:4-dimethyl-phenol	20	32	32	20	18
F/31	6-Jod-2:4-dimethyl-phenol	12	13	15	12	10
F/32	2:6-Dichlor-4-methyl-phenol	—	—	22	22	10
F/33	2:6-Dibrom-4-methyl-phenol	17	10	25	10	15
F/34	2:6-Dijod-4-methyl-phenol	20	25	23	20	18
F/35	2:4-Dijod-5-methyl-phenol	16	17	16	16	15
F/36	2:4:6-Tribrom-5-methyl-phenol	16	15	20	12	12
F/37	2:4-Dichlor-6-methyl-phenol	12	—	18	12	10
F/38	2:4-Dibrom-6-methyl-phenol	32	37	37	17	17
F/39	2:4-Dijod-6-methyl-phenol	20	35	20	20	20
F/40	2:6-Dichlor-3:4-dimethyl-phenol	15	—	12	15	10
F/41	2:6-Dibrom-3:4-dimethyl-phenol	15	12	20	26	15
F/42	2:6-Dijod-3:4-dimethyl-phenol	10	22	17	15	13
F/43	2- <i>i</i> -Propyl-5-methyl-4-brom-phenol	10	10	12	12	12
F/44	3-Jod-4-hydroxy-diphenyl	13	15	17	10	14
F/45	3:5-Dichlor-4-hydroxy-diphenyl	10	10	22	10	12
F/46	3:5-Dibrom-4-hydroxy-diphenyl	10	12	13	10	—
F/53	2-Brom-4-propionyl-phenol	24	17	25	20	28
F/54	2-Jod-4-propionyl-phenol	20	10	17	10	10
F/62	4- <i>n</i> -Hexyl-resorzin	28	18	30	12	12
F/64	Tetrabrom-pyrocatechin	18	18	15	17	18
F/65	2:6-Dibrom-resorzin	10	10	23	15	11
F/67	2:6-Dibrom-5-methyl-resorzin	15	20	17	15	17
F/93	4-Hydroxy-benzoesäure- <i>n</i> -butyl-ester	11	15	12	17	12

TABELLE 3—continued.

Nr.	Verbindungen	<i>Penicillium simplicissimum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichothecium roseum</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
F/102	3-Brom-4-hydroxy-benzoesäure-methyl-ester	15	25	15	17	10
F/103	3-Brom-4-hydroxy-benzoesäure- <i>n</i> -propyl-ester	15	23	15	17	10
F/104	3-Brom-4-hydroxy-benzoesäure- <i>n</i> -butyl-ester	12	12	12	14	—
F/109	1-Naphtol	20	15	20	—	—
F/110	2-Naphtol	20	15	22	—	—
F/111	2-Hydroxy-1-naphtaldehyd	15	15	18	—	—
F/112	2-Chlor-1-naphtol	34	33	33	25	12
F/113	2-Brom-1-naphtol	10	10	15	10	10
F/114	1-Chlor-2-naphtol	46	40	40	25	12
F/115	1-Brom-2-naphtol	20	20	33	20	25
F/120	2-Amino-phenol	30	—	20	—	13
F/149	4-Hydroxy-3-chlor-azobenzol	15	15	12	20	15
F/150	4-Hydroxy-3-methyl-4'-chlor-azobenzol	12	—	22	12	12
F/151	4-Hydroxy-2-methyl-4'-chlor-azobenzol	10	—	17	10	12
F/152	4-Hydroxy-3:4'-dichlor-azobenzol	12	—	20	15	12
F/212	2-Acetyloxy-naphtalin	17	15	—	—	10
F/213	1-Chlor-2-acetyloxy-naphtalin	20	17	—	10	10

#### Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus der Phenol-Derivate

Schraufstätter und seine Mitarbeiter haben nachgewiesen, dass die fungistatische Wirkung des 2:2'-Dioxy-5:5'-dichlor-diphenyl-sulfids durch die Zugabe des an 55 °C Temperatur inaktivierten menschlichen Serums zum Nährboden bedeutend geschwächt werden kann.<sup>51</sup> Durch Serum wird—laut der Fachliteratur—auch die fungistatische Wirkung des *N-n*-Butyl-3-phenyl-salicylamids<sup>31</sup> und des *p*-Hydroxy-benzoesäure-*n*-propyl-ester<sup>37</sup> erniedrigt.

Trotzdem wurde aber die Beeinflussung der fungistatischen Wirkung der Phenole durch Serum, sowie die Abhängigkeit dieses Einflusses von dem chemischen Aufbau auf breiteren Grundlagen noch nicht untersucht. Deshalb haben wir im Laufe unserer Forschungen mit Rücksicht auf die fungistatische Wirkung der auf serumhaltigem flüssigem Nährboden sich schon wirksam erwiesenen Phenol-Derivate *auch auf serumfreiem flüssigem Maische-Nährboden*, ausserdem aber auch *auf festem Maische-Agar Nährboden mit 10% Rinderserum-Gehalt* Untersuchungen vorgenommen. Wir suchten zu erforschen, ob es zwischen der auf serumfreiem und serumhaltigem Nährboden ausgeübten fungistatischen Wirkung der Phenol-Derivate sowohl auf flüssigem, als auch auf festem Nährboden-einen bedeutenden Unterschied geben kann. Wir haben unsere Forschungen auch in der Richtung ausgedehnt, inwieweit andere Zellbestandteile ausser den Eiweissen, wie z.B. das Lecithin, Lanolin (=Cholesterinfettsäuren-ester), Cholesterin und einfache Fette (z.B. Sonnenblumenöl) die fungistatische Wirkung der bei unseren Experimenten wirksam erwiesenen Phenole beeinflussen. Ausserdem haben wir Untersuchungen bezüglich dessen unternommen, inwieweit die fungistatische Wirkung der verschiedenen Phenole (auf serumfreiem Nährboden) von dem pH des Kulturmediums abhängig ist.

Alle diese Untersuchungen wurden deshalb durchgeführt, um dadurch zur Erkenntnis des biochemischen Wirkungsmechanismus der Phenol-Derivate mit fungistatischer Wirkung näher zu kommen und zugleich die Zusammenhänge zwischen der Intensität der fungistatischen Wirkung und der chemischen Struktur innerhalb dieser Gruppe von Verbindungen aufklären zu können.

Die angewandte Methode war identisch mit der vorher geschriebenen. Aber zu diesen Versuchen anwendeten wir nicht nur serumhaltigen flüssigen Maische-Nährboden und festen Maische-Agar sondern auch serumlosen Maische-Nährboden und 1% Rinder Serum enthaltenden festen Maische-Agar; ausserdem wurden Maische Nährboden angewandt, welche enthielten noch (als Zugaben) 0,25% Lecithin, Lanolin, Cholesterin, bzw. Sonnenblumenöl.

Zu unseren auf flüssigen Nährbodenarten unternommenen Untersuchungen haben wir als Test-Organismus *Penicillium simplicissimum*, auf den festen Maische-Agar-Nährbodenarten durchgeführten Versuchen ausserdem noch *Trichothecium roseum* und *Saccharomyces cerevisiae* verwendet.

Die Ergebnisse, die wir über den biochemischen Wirkungsmechanismus der Phenol-Derivate erzielt haben, sind in den Tabellen 4 und 5 zusammengefasst.

Wir untersuchten auf festem Maische-Agar-Nährboden die durch Serum verursachte Beeinflussbarkeit der fungistatischen Wirkung jeder Phenol-Derivate welche in der Tabelle 3 aufgeführt sind. Unsere Versuche gaben das Ergebnis, dass die auf

TABELLE 4. DIE BEEINFLUSSUNG DER AUF DAS *Penicillium simplicissimum* AUSGEÜBTEN FUNGISTATISCHEN WIRKUNG DER PHENOL-DERIVATE DURCH DIE ZUGABE VON VERSCHIEDENEN SUBSTANZEN ZUM FLÜSSIGEN MAISCHENÄHRBODEN.

Nr.	Verbindungen	—	10% Rinder- serum	0,25% Lecit- hin	0,25% Lano- lin	0,25% Chole- sterin	0,25% Sonnen- blumenöl
F/7	2- <i>i</i> -Propyl-5-methyl-phenol	10 000	5000	5000	—	10 000	—
F/8	4-Hydroxy-diphenyl	25 000	10 000	10 000	10 000	25 000	10 000
F/12	3- <i>n</i> -Hexyloxy-phenol	10 000	5000	5000	—	10 000	—
F/13	4- <i>n</i> -Hexyloxy-phenol	10 000	5000	5000	—	10 000	—
F/18	4-Chlor-phenol	10 000	10 000	5000	10 000	10 000	10 000
F/19	4-Brom-phenol	10 000	10 000	5000	10 000	10 000	10 000
F/20	2-Jod-4-chlor-phenol	25 000	10 000	10 000	10 000	25 000	10 000
F/21	2:4-Dijod-phenol	25 000	10 000	10 000	(5000)	25 000	—
F/22	2:6-Dibrom-4-chlor-phenol	50 000	10 000	10 000	10 000	50 000	10 000
F/23	2:6-Dijod-4-chlor-phenol	50 000	10 000	10 000	10 000	50 000	10 000
F/24	2:4-Dibrom-6-chlor-phenol	25 000	10 000	10 000	10 000	25 000	10 000
F/25	2:4-Dijod-6-chlor-phenol	25 000	10 000	10 000	5000	25 000	10 000
F/26	2:4:6-Tribrom-phenol	50 000	10 000	10 000	(5000)	50 000	(5000)
F/27	2:4:6-Trijod-phenol	25 000	10 000	10 000	5000	25 000	—
F/28	2-Jod-4-methyl-phenol	10 000	10 000	5000	5000	10 000	5000
F/29	6-Chlor-2:4-dimethyl-phenol	10 000	10 000	10 000	5000	10 000	5000
F/30	6-Brom-2:4-dimethyl-phenol	25 000	10 000	5000	5000	25 000	5000
F/31	6-Jod-2:4-dimethyl-phenol	25 000	5000	5000	—	25 000	—
F/32	2:6-Dichlor-4-methyl-phenol	25 000	10 000	10 000	5000	25 000	10 000
F/33	2:6-Dibrom-4-methyl-phenol	25 000	10 000	10 000	5000	25 000	5000
F/34	2:6-Dijod-4-methyl-phenol	25 000	10 000	5000	—	25 000	—
F/35	2:4-Dijod-5-methyl-phenol	25 000	5000	10 000	—	25 000	—
F/36	2:4:6-Tribrom-5-methyl-phenol	50 000	10 000	10 000	—	50 000	—
F/37	2:4-Dichlor-6-methyl-phenol	25 000	10 000	10 000	5000	25 000	10 000
F/38	2:4-Dibrom-6-methyl-phenol	25 000	10 000	10 000	5000	25 000	5000
F/39	2:4-Dijod-6-methyl-phenol	25 000	10 000	5000	5000	25 000	—
F/40	2:6-Dichlor-3:4-dimethyl-phenol	10 000	10 000	10 000	5000	10 000	—

TABELLE 4—continued.

Nr.	Verbindungen	—	10% Rinder- serum	0,25% Lecitin	0,25% Lano- lin	0,25% Chole- sterin	0,25% Sonnen- blumenöl
F/41	2:6-Dibrom-3:4-dimethyl-phenol						
F/42	2:6-Dijod-3:4-dimethyl-phenol	25 000	5000	5000	—	25 000	—
F/43	2- <i>i</i> -Propyl-4-brom-5-methyl-phenol	10 000	5000	(5000)	—	10 000	—
		25 000	5000	5000	—	26 000	(5000)
F/53	2-Brom-4-propionyl-phenol	10 000	5000	10 000	10 000	10 000	10 000
F/62	4- <i>n</i> -Hexyl-resorzin	25 000	10 000	10 000	10 000	25 000	10 000
F/64	Tetrabrom-pyrokatechin	25 000	—	—	—	25 000	10 000
F/65	2:6-Dibrom-resorzin	10 000	5000	5000	(5000)	10 000	5000
F/67	2:6-Dibrom-5-methyl-resorzin	10 000	5000	5000	5000	10 000	5000
F/68	2:6-Dibrom-4- <i>n</i> -hexyl-resorzin	10 000	—	—	—	10 000	—
F/74	2-Hydroxy-5-brom-benzaldehyd	25 000	5000	5000	5000	10 000	5000
F/92	4-Hydroxy-benzoesäure- <i>n</i> -propyl-ester	10 000	5000	(5000)	(5000)	10 000	5000
F/93	4-Hydroxy-benzoesäure- <i>n</i> -butyl-ester	10 000	5000	(5000)	(5000)	10 000	(5000)
F/102	3-Brom-4-hydroxy-benzoesäure-methyl-ester	10 000	—	—	—	10 000	—
F/103	3-Brom-4-hydroxy-benzoesäure- <i>n</i> -propyl-ester	10 000	—	—	—	10 000	—
F/109	1-Naphtol	25 000	10 000	10 000	5000	25 000	5000
F/110	2-Naphtol	25 000	10 000	10 000	10 000	25 000	10 000
F/112	2-Chlor-1-naphtol	25 000	10 000	5000	5000	25 000	5000
F/113	2-Brom-1-naphtol	25 000	10 000	5000	5000	25 000	5000
F/114	1-Chlor-2-naphtol	25 000	10 000	10 000	5000	25 000	5000
F/115	1-Brom-2-naphtol	25 000	10 000	5000	5000	25 000	5000
F/149	4-Hydroxy-3-chlor-azobenzol	25 000	(5000)	(5000)	—	25 000	—
F/207	1-Acetyloxy-4-chlor-benzol	10 000	10 000	10 000	5000	10 000	5000
F/210	4-Acetyloxy-diphenyl	25 000	10 000	5000	—	25 000	—
F/211	1-Acetyloxy-naphtalin	10 000	10 000	10 000	5000	10 000	5000
F/212	2-Acetyloxy-naphtalin	10 000	10 000	10 000	5000	10 000	5000
F/213	1-Chlor-2-acetyloxy-naphtalin	25 000	10 000	10 000	5000	25 000	5000
F/246	1-Aethoxy-naphtalin	10 000	5000	5000	—	5000	—
F/252	2-Aethoxy-naphtalin	10 000	5000	—	—	5000	—

TABELLE 5. DER EINFLUSS DES pH DES NÄHRBODENS AUF DIE FUNGISTATISCHE WIRKUNG DER PHENOL-DERIVATE GEGEN DAS *Penicillium simplicissimum*

Nr.	Verbindungen	pH = 4,0	pH = 6,0	pH = 8,0
F/8	4-Hydroxy-diphenyl	25 000	25 000	25 000
F/18	4-Chlor-phenol	10 000	10 000	10 000
F/20	2-Jod-4-chlor-phenol	50 000	25 000	25 000
F/22	2:6-Dibrom-4-chlor-phenol	100 000	50 000	5000
F/23	2:6-Dijod-4-chlor-phenol	50 000	50 000	10 000
F/32	2:6-Dichlor-4-methyl-phenol	25 000	25 000	25 000
F/40	2:6-Dichlor-3:4-dimethyl-phenol	10 000	10 000	10 000
F/41	2:6-Dibrom-3:4-dimethyl-phenol	25 000	25 000	10 000
F/42	2:6-Dijod-3:4-dimethyl-phenol	10 000	10 000	10 000
F/53	2-Brom-4-propionyl-phenol	25 000	10 000	10 000
F/62	4- <i>n</i> -Hexyl-resorzin	25 000	25 000	25 000
F/64	Tetrabrom-pyrokatechin	25 000	25 000	(5000)
F/71	2-Hydroxy-benzaldehyd	5000	5000	5000
F/93	4-Hydroxy-benzoesäure- <i>n</i> -butyl-ester	10 000	10 000	10 000
F/104	3-Brom-4-hydroxy-benzoesäure- <i>n</i> -butyl-ester	10 000	10 000	10 000
F/109	1-Naphtol	25 000	25 000	25 000
F/110	2-Naphtol	25 000	25 000	25 000
F/114	1-Chlor-2-naphtol	25 000	25 000	25 000
F/115	1-Brom-2-naphtol	25 000	25 000	25 000

das *Penicillium simplicissimum*, *Trichothecium roseum* und *Saccharomyces cerevisiae* ausgeübte fungistatische Wirkung jeder Verbindungen der Tabelle 3 (ausgenommen die des *o*-Amino-phenols, F/120)—auf festem Maische-Agar-Nährboden durch Serum gleichmässig ganz aufgehoben wurde.

#### BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Bei der Übersicht der auf flüssigem Serum-Maische-Nährboden ausgeführten Untersuchungen fällt es gleich in die Augen, dass zahlreiche Phenol-Derivate selbst in einer 2–2,5-mal, einige sogar in mehr als fünfmal grösserer Verdünnung wirksam sind gegen das *Trichothecium roseum*, *Achorion quinckeanum*, *Trichophyton gypseum* und *Epidermophyton Kaufman-Wolff*, wie auf das *Penicillium simplicissimum* und *Aspergillus niger*, oder auf das *Candida albicans*. Diese Verschiedenheit der Sensibilität der zwei Gruppen von den angeführten Pilzstämmen besteht freilich nicht gegenüber einem jedem Phenol-Derivat mit fungistatischer Wirkung; sie lässt sich also für keine Gesetzmässigkeit von allgemeiner Geltung halten, die keine Ausnahme erlaubt, sondern kann vielmehr für eine sehr häufige (und eben deshalb sehr charakteristische) Erscheinung genommen werden, woraus man den Schluss ziehen kann, dass der Aufbau der Zellwand bzw. des Zellmembrans bei den früher erwähnten Pilzstämmen, ihre Permeabilität (oder unter Umständen auch ihr Stoffwechsel) weitgehend verschieden sein kann von denen der später erwähnten Pilzarten. Die früher und später erwähnten Gruppen der Pilzstämmen zeigen eine voneinander mehr oder weniger abweichende Sensibilität nicht nur gegenüber vielen Phenol-Derivaten, sondern auch gegen vielen Verbindungen von ganz anderer Struktur und verschiedenem Wirkungsmechanismus.

Auch dieser Umstand zeigt darauf, dass der Zellaufbau, die chemische Struktur ihrer Zellwand, bzw. Zellmembrans dieser zwei Gruppen der Pilze, und infolge dessen auch ihre Permeabilität, voneinander bedeutend abweichen kann; nur alle diese Umstände vorausgesetzt können wir ihre so verschiedenartige Empfindlichkeit gegenüber einer ganzen Anzahl von Verbindungen erklären (z.B. die Phenol-Derivate von Nr. F/2, 3, 4, 5, 6, 16, 17, 20, 23, 25, 55, 57, 58, 64, 68, 71, 87, 88, 89, 90, 94, 95, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 120, 121, 122, 179, 225, 231, 240, 246, 247, 252, 254, 259, 260, usw.).

Wenn wir nun vergleichen die fungistatische Wirkung der untersuchten Phenol-Derivate, welche sie auf dieselben Pilzstämmen auf flüssigem Serum-Maische-Nährboden und der auf festem Maische-Agar Kulturmedium ausüben, so erscheint es uns gleich auffallend, dass in den auf zwei verschiedenen Nährboden-Arten bekommenen Ergebnissen in zahlreichen Fällen recht grosse Unterschiede zu finden sind (so z.B. bei den Verbindungen von Nr. F/7, 15, 18, 19, 28, 74, 207, 208, 225, 246, usw.). Das gleiche lässt sich beobachten werden zahlreichen Verbindungen von anderer Struktur, die zu anderen Verbindungsgruppen gehören. Die Ursachen dieser Erscheinung sind physikalisch-chemische Problemen; ihre Erörterung ist nicht unsere Zielsetzung, so können wir diese hier übergehen.

Die Ergebnisse der auf flüssigem Maische-Nährboden unternommenen Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus erwiesen, dass das Rinderserum, Lecithin, Lanolin, ja sogar auch das Sonnenblumenöl die auf das *Penicillium simplicissimum* ausgeübte fungistatische Wirkung zahlreicher Phenol-Derivate um 0,5–0,20 Teil ihrer ursprünglichen Wirkung abzuschwächen vermag; dagegen kann das Cholesterin ihre

fungistatische Wirkung nicht beeinflussen. Dabei kann das Serum die fungistatische Wirkung einiger Phenol-Derivate entweder durchaus nicht, die erwähnten anderen Stoffe auch nicht, oder nur in geringem Masse vermindern (z.B. die der Verbindungen von Nr. F/18, 19, 28, 29, 40, 71, 207, 211, 212).

Die auf das *Penicillium simplicissimum*, *Trichothecium roseum*, *Saccharomyces cerevisiae* auf festem Nährboden ausgeübte fungistatische Wirkung der untersuchten Phenol-Derivate (ausgenommen die des F/120) wird durch die Zugabe von 10% Rinderserum zum Nährboden (=etwa 0,7% Serum-Eiweiss-Gehalt im Kulturmedium) im Verhältnis zu den auf serumfreiem gewonnenen Ergebnissen gänzlich aufgehoben. Die Phenole werden vermutlich durch salzartige Bindungen an die Eiweisse geschlossen; diese Bindungen werden wahrscheinlich zwischen den basischen Gruppen der Eiweisse und den Hydroxyl-Radikalen von sauerem Charakter der Phenole gebildet. Ausser diesem Typ der Bindung sollen dabei noch zwischen den verschiedenen Substituenten der Phenole und den einzelnen Zentren der Eiweissmoleküle entstehenden Koordinative Bindungen unbedingt eine wichtige Rolle spielen. Die Eiweisse werden die fungistatische Wirkung irgendeines Phenol-Derivates umso stärker vermindern, je stabiler der zu ihnen anknüpft ist.

Das Sonnenblumenöl und das Lanolin (das letzere bildet die Cholesterin-ester von gesättigten und ungesättigten Fettsäuren) können die fungistatische Wirkung der untersuchten Phenol-Derivate vermutlich dadurch vermindern, dass sie jene in sich selbst durchlösen und dadurch die ihren in der wässrigen Phase des Nährbodens erreichten Konzentrationen herabsetzen. Das Cholesterin, das im Nährboden (gegenüber dem in Form von Fetttropfchen anwesenden Sonnenblumenöl, Lanolin und Lecithin) in Kristall-Form anwesend war, vermochte wahrscheinlich die untersuchten Verbindungen nicht in sich selbst "hinüberzulösen", und so konnte auch ihre fungistatische Wirkung nicht beeinflussen. Der die fungistatische Wirkung der Phenole hemmenden Eigenschaft des Lanolins und Sonnenblumenöls liegen nach unserer Meinung bloss physikalische Vorgänge zugrunde. Von der gleichen Natur mag wohl

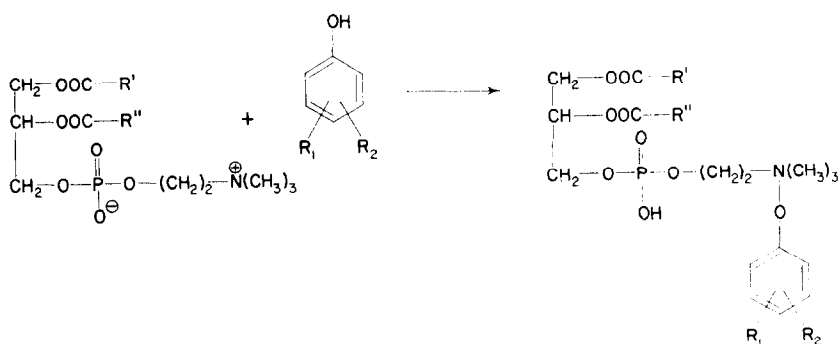


FIG. 1.

auch der wirkungshemmende Einfluss des Lecithins auf eine Anzahl der untersuchten Phenol-Derivate sein; es besteht jedoch auch die Möglichkeit, dass zwischen dem Lecithin und einigen Phenolen,—ausser der "Durchlösung" von rein physikalischer Natur—auch noch eine chemische Bindung zustande kommen kann auf die folgende Weise:

Es ist anzunehmen, dass in der Denaturierung der Zellwände und Fäden der Pilze durch Phenol-Derivate sowohl diese erwähnte Reaktion, als auch die damit verwandten Reaktionen (z.B. ihre, die mit Kephalin- und Sphingosin-artigen Lipoiden von Pilzen entstehenden Reaktionen) eine beträchtliche Rolle spielen; sie sind vermutlich—ausser der Eiweiss-Denaturierung—wichtige Komponente des biochemischen Wirkungsmechanismus der Phenol-Derivate von fungistatischer Wirkung.

Bei der Untersuchung der fungistatischen Wirkung der Phenol-Derivate auf *Penicillium simplicissimum* auf flüssigem Nährboden von pH = 4, 6 und 8 haben wir erfahren, dass die fungistatische Wirkung jener Verbindungen, deren Dissoziations-Konstante ungefähr die gleiche Grössenordnung besitzt als der des Phenols selbst ( $pK_a = 9,89$ ), auf den Kulturmedien von den allen drei pH-Grössen sich auf der gleichen Stufe zeigte (z.B. die Verbindungen F/8, 18, 62, 71, 93, 109, 110). Dagegen zeigen jene Phenol-Derivate, bei denen der negative Logarithmus der Dissoziations-Konstante ( $=pK_a$ ) unter 8 steht, also jene, welche mehrere “negativisierende” Substituenten enthalten, *im allgemeinen* eine stärkere fungistatische Wirkung auf einem Maische-Nährboden von pH = 4 oder 6, als auf einem von pH = 8 (z.B. die Verbindungen F/20, 22, 23, 41, 53, 64). Für das abweichende Verhalten der Verbindungen Nr. F/32, 40, 42, 114, 115—obwohl ihr  $pK_a$  unter 8 steht—können wir zurzeit keine ausreichende Erklärung geben.

Obwohl die Phenol-Derivate, bei denen der negative Logarithmus der Dissoziations-Konstanten niedrig ist ( $pK_a < 8$ ), also jene, die *verhältnismässig* gut dissoziieren und demzufolge eine bedeutende Säuren-Eigenschaft besitzen, sind im allgemeinen wesentlich wirksamer, als jene von höherem ( $> 9$ )  $pK_a$ ; jedoch werden wir auf Grund der vorhergehenden Behauptungen voraussetzen müssen, dass die “Wirkungsform” der Phenole das nicht dissoziierte ganze Molekül selbst bildet und nicht etwa das Phenolat-anion, was durch die Resultate unserer auf Kulturmedien von verschiedenem pH unternommenen Experimenten bestätigt wird.

Die Dissoziation der Phenole, besonders jener mit niedrigerem  $pK_a$ , besitzt nämlich bei pH = 8 einen höheren Grad, als bei pH = 6 oder 4; die Acidität des Nährbodens drängt die Dissoziation der Phenole zurück. Unsererseits erachten es für wahrscheinlich, dass die Phenol-Derivate in nicht dissoziierte liposolubiler Form in die Zellwände und Zellmembran der Sporen und Fäden der Pilze diffundieren, aber dort reagiert schon ihre dissoziierte Form mit den Eiweissen und Lecithinen derselben, oder mit ihren auch andere basische Zentren enthaltenden lebenswichtigen Bestandteilen.

Aus den Zusammenhängen der fungistatischen Wirkung der Phenol-Derivate mit ihrem chemischen Aufbau lässt sich der Schluss ziehen, dass nur jene Phenol-Derivate eine bedeutende fungistatische Wirkung besitzen, welche folgende physikalisch-chemische und strukturelle Eigenschaften besitzen:

### 1. Ein hochgradiger Verteilungs-Quotient zwischen Lipoid und Wasser

Jene Phenol-Derivate, bei denen der Verteilungsquotient zwischen Lipoid und Wasser allzu hoch ist (praktisch  $\infty$ ), erweisen sich wirkungslos (z.B. F/47, 51, 52, 69, 117, 118, 163, 164, 180, 181, 182, 185, 187, usw.); diejenigen, bei denen dieser Quotient sehr niedrig ist (z.B. die Sulfonsäuren und ihre Salze), sind auch unwirksam (z.B. die F/56, 59, 60, 63, 166–174).

Der Verteilungsquotient zwischen Lipoid und Wasser der Verbindungen von Nr. F/55, 57, 58, 120, 121, 122 ist zwar niedrig, diese sind aber doch fungistatisch wirksam; deren Wirkungsmechanismus ist aber von ganz anderer Natur, wie der von den anderen Phenol-Derivaten.

## 2. Moleküloberfläche von entsprechender Grösse oder Alkyl-Substituent von entsprechender Länge

Diese sind notwendig, um einerseits den Verteilungsquotient zwischen Lipoid und Wasser zu erhöhen, andererseits aber, damit die Adsorption der Verbindungen and die Lipoproteide der Zellwand oder des Zellmembrans der Pilzsporen und Pilzfäden auf einer entsprechenden Fläche von optimaler Grösse verwirklicht werde. Wenn die Bindung irgendeines Phenol-Derivates an die Pilzelemente nicht nur durch phenolische Hydroxyl-Radikale mittels lauter chemischer Kräfte erfolgt, sondern auch auf dem Wege physikalisch-chemischer Adsorption, dann ist die Affinität einer solchen Verbindung an die Pilzelemente, andererseits aber die Stabilität der schon entstandenen Bindungen beträchtlich hochgradiger, also ohne die Mitwirkung derselben.

Die Oberfläche des Benzolringes betrug  $17,4\text{\AA}^2$  die des Naphtalinringes  $27,9\text{\AA}^2$  die des Anthrazenringes aber  $38,5\text{\AA}^2$ .<sup>61</sup>

Es muss eine optimale Oberfläche geben (ungefähr von gleicher Grösse wie die des Naphtalins), die das Molekül erreichen soll, um fungistatisch wirksam zu werden; andererseits darf es aber auch diese Grösse der Oberfläche nicht bedeutend überschreiten.

Die in die Phenole eingeführten Alkyl-, Alkyloxy- und Aryl-Substituenten können *nicht nur* durch die Erhöhung des Verteilungsquotienten zwischen Lipoid und Wasser die fungistatische Wirkung steigern, sondern auch dadurch, dass sie infolge der Van der Waalschen Kräfte intermolekular aneinander geschlossen die Phenol-Derivate in Form mit "micellaler" Struktur verwandeln, welche Micellen, d.h. Molekül-Assoziaten eine Affinität an die Pilzelemente—und dadurch auch die fungistatische Wirkung der zur Assoziation geneigten Phenol-Derivate im allgemeinen—in bedeutend grösserem Masse besitzen, als die sonst nicht assoziierten einzelnen Moleküle hätten (z.B. das F/8, 10–15 gegenüber F/1; F/2 gegenüber F/56 und 60; F/87–90 gegen F/86; F/92–95 gegen das F/91, usw.). Allzu lange Alkyl-Substituenten, oder die gemeinsame Anwesenheit von Alkyl-Gruppen zwar von mittlerer Länge und dabei aber noch *mehreren Halogen-Atomen* in dem Molekül (siehe die Verbindungen von Nr. F/68, 69, 99, 100) erhöhen beträchtlich den Verteilungsquotienten zwischen Lipoid und Wasser der Phenole; deshalb sind die Phenol-Derivate mit solchen Substituenten, bzw. von solcher Struktur wirkungslos.

## 3. Eine zur Ionisation geeignete freie phenolische Hydroxyl-Gruppe

Die Bindung der Phenol-Derivate an die Pilzelemente erfolgt hauptsächlich durch die phenolische Hydroxyl-Gruppe; so besitzt also dieses Radikal mit Rücksicht auf die fungistatische Wirkung der Verbindungen dieser Klasse eine hervorragende Bedeutung.

Dabei muss man aber auch feststellen, dass es Ausnahmen von dieser Regel gibt. Z.B. eine fungistatische Wirkung haben die O-Acetyl-phenole und auch einige Phenol-äther (siehe die Angaben der Tabellen).



Aus diesem lässt sich der Schluss ziehen, dass die Bindung zwischen den Eiweissen, Lipoiden, Lipoproteiden der Pilzsporen und Pilzfäden, sowie den verschiedenen Phenol-Derivaten *nicht nur* durch die Salzbildung mittels Hydroxyl-Radikale entstehen kann, sondern— durch den Oxygen-Atom!—auch mit der Vermittlung von Neben-Valenzen, Koordinations-Bindungen von *Van der Waal'schen Kräften* zugleich erfolgt.

Der negative Logarithmus der Dissoziations-Konstante ( $= pK_a$ ) der Phenol-Derivate von freien Hydroxyl-Gruppen vermindert sich durch Halogen-Substitution. Ihre fungistatische Wirkung erhöht sich—innerhalb gewisser Grenzen—damit parallel, aber nur in dem Falle, wenn diese durch andere strukturelle Faktoren nicht verhindert wird.

Die Dissoziation der phenolischen Hydroxyl-Gruppen steigernde Wirkung der in die Moleküle der Phenole eingeführten Halogen-Atome können wir durch die unteren Formeln veranschaulichen:

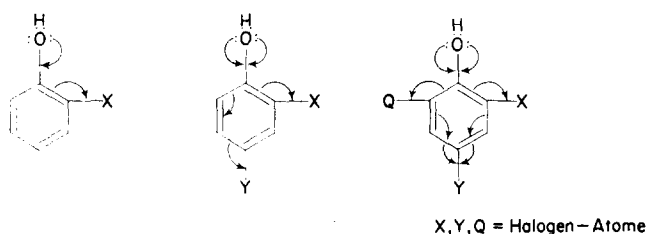


FIG. 2.

Aus diesen Formeln ersieht man, dass die X, Y, Q Substituenten durch ihre elektrophyle Eigenschaft die Elektronen-Dichte um das phenolische Oxygen-Atom vermindern, infolge dessen vermag das Phenol leichter das ihm gehörende Proton als  $H^+$ -Ion abzugeben, und das umso leichter, je mehr elektrophyle Substituenten ( $= X, Y, Q$ ) das Molekül enthält; weil die Elektronen-Dichte um das Oxygen-Atom wird ja damit umso geringer.

Die zwei Halogen-Atome enthaltenden Phenole haben meist eine stärkere fungistatische Wirkung, als die nur mit einem Halogen-Atom; die mit drei Halogen-Atomen sind noch wirksamer.

Jene Phenol-Derivate, welche bei ihrer Dissoziation ihre elektrische Ladung nicht auf ihrem phenolischen Oxygen-Atom tragen, bleiben gänzlich oder beinahe ohne Wirkung—wie z.B. die Phenol-karbonsäuren (F/75–85). Durch Esterisation ihrer saueren Karboxyl-Gruppe (im Falle, wenn der zur Esterisation gebrauchte Alkohol drei bis sechs Kohlenstoff-Atome enthält!) kommen durch sie wirksame Verbindungen zustande; die infolge der Esterisation entstandenen Phenol-karbonsäure-ester benehmen sich schon nämlich als lipophile Substituenten besitzende Phenole, bei deren Dissoziation nicht mehr Phenol-karboxylat, sondern Phenolat-anion entsteht (F/87–90, 92–98, 101–107). Für wirkungslos gelten auch die basischen Nitrogen-Atom enthaltenden Phenol-Derivate, denn die säurige Dissoziation ihrer phenolischen Hydroxyl-Gruppe wird durch die basische Dissoziation ihres Nitrogen-Atoms zurückgedrängt, bzw. ihre bei der Dissoziation entstehenden positiven und negativen Ladungen heben sich gänzlich oder teilweise gegenseitig auf (z.B. F/123, 126–135 usw.). Eine Ausnahme davon bilden die Verbindungen von Nr. F/120, 121

und 122, deren Wirkungsmechanismus vermutlicherweise weitgehend von dem der meisten Phenol-Derivate abweichend ist. Diese Verbindungen (und jene von Nr. F/55, 57, 58, gleichfalls) können ihre fungistatische Wirkung wahrscheinlich auf dem Wege ausüben, dass sie in dem Nährboden zu Chinonimine (bzw. zu Chinone) oxidiert werden und diese Oxidationsprodukte werden erst zu den eigentlichen Agenten von fungistatischer Wirkung: sie hemmen nämlich die Tätigkeit einiger lebenswichtigen Sulfhydryl-Enzyme der Zellen von Pilzen. Sie üben also ihre Wirkung—nach unserer Voraussetzung—abweichend von den meisten Phenol-Derivaten, nicht auf die Zellwand, bzw. auf das Zellmembran der Pilze, sondern auf intrazellulären Stoffwechsel-Vorgänge aus.

Die Ergebnisse unserer Forschungen beweisen, dass die fungistatische Wirkung der unsererseits *in vitro* am wirksamsten gefundenen Phenol-Derivate durch das Serum (und vermutlich auch durch andere Eiweiss-arten), sowie durch verschiedene Lipide bedeutend vermindert wird. Diese Erscheinung lässt uns darauf schliessen, dass das Wirkungsmechanismus der Phenol-Derivate *nicht ausschliesslich* die Hemmung irgendeines spezifischen biochemischen Vorganges der Pilze zugrunde liegt, sondern ihre fungistatische Wirkung durch aspezifische Denaturierung der Zellwand, bzw. des Zellmembrans erreicht wird. Diese Wirkung beschränkt sich freilich nicht nur auf die verschiedenen Pilzarten, sondern mag überhaupt für alle lebende Zellen gelten (deshalb ist sie ja eben aspezifisch!).

#### ZUSAMMENFASSUNG

Verfasser hat die fungistatische Wirkung von 260 Phenol-Derivaten untersucht, die sie auf flüssigem Serum-Maische Nährboden, sowie auf festem Maische-Agar Nährboden ausübten, und den Wirkungsmechanismus derjenigen studiert, welche er in seinen Versuchen am wirksamsten gefunden hatte.

Er behandelte zugleich die Zusammenhänge, welche zwischen der *in vitro* ausgeübten fungistatischen Wirkung der Phenol-Derivate und deren chemischem Aufbau bestehen. Herausgegangen von der Beeinflussbarkeit ihrer fungistatischen Wirkung durch Serum-Eiweisse, Lecithin, Lanolin, Cholesterin und Sonnenblumenöl suchte er Schlüsse bezüglich des Wirkungsmechanismus der Phenol-Derivate zu ziehen.

#### LITERATUR

1. E. KLARMANN, V. A. SHTERNOV und L. W. GATES, *J. Amer. Chem. Soc.* **55**, 2576 (1933).
2. G. J. WOODWARD, M. A. MILTON *et al.*, *J. Lab. Clin. Med.* **19**, 1216 (1934).
3. D. E. H. FREAR, *A Catalogue of Insecticides and Fungicides* Vol I-II (1947–1948).
4. H. ENGELHARD, O. MÜLLER und K. BERTL, *Zbl. Bakt.* **153**, 326 (1948–1949).
5. *Chem. Abstr.* 4702/b (1948).
6. L. J. MEULI und B. J. THIEGS, *Phytopathology* **36**, 406 (1946).
7. A. J. COX, *Agric. Chem.* **2**, (4), 49 (1947).
8. A. J. BAILLIE, G. G. FREEMAN, J. W. COOK und A. R. SOMMERVILLE, *Nature, Lond.*, **166**, 65 (1951).
9. J. G. HOPKINS, *et al.*, *J. Invest. Derm.* **7**, 239 (1946).
10. F. HARTLEY, *Quart. J. Pharm.* **20**, 388 (1947).
11. P. GAVANDAN, *Mém. serv. chim. état (Paris)* **32**, 418 (1945); *Chem. Abstr.* 5601 (1948).
12. E. V. MÜLLER, J. R. WINSTON, und G. A. MECKSTROTH, *Fla. State Hort. Soc.* **57**, 144 (1944).
13. H. M. CHILES, *Soap. Sanit. Chemicals* **16**, 111 (1940).
14. A. B. HILLEGAS und E. CAMP, *J. Invest. Derm.* **6**, 217 (1945).
15. E. SCHRAUFSTÄTTER, R. RICHTER und W. DITSCHIED, *Arch. Derm. Syph.* **188**, 259 (1949–1950).
16. FUKUJIRO FUJIKAWA, KUNIO NAKAJIMA, HIROSHI FUJII und JUNZO KATSURAGI, *J. Pharm. Soc. Japan* **70**, 256 (1950); *Chem. Abstr.* 775/c (1951).

17. FUKUJIRO FUJIKAWA und KUNIO NAKAJIMA, *J. Pharm. Soc. Japan* **71**, 754 (1951); *Chem. Abstr.* 10, 411/e (1951); *Ibid.* 1827/a (1949).
18. A. T. LEAO und F. W. EICHBAUM, *Rev. brasil. biol.* **8**, 281 (1948).
19. F. K. HARDER, *N. Carolina Med. J.* **7**, 20 (1946).
20. B. HEINEMANN, *J. Invest. Derm.* **9**, 277 (1947).
21. F. C. BOCOCO, A. C. CURTIS und E. R. HARRELL, *J. Invest. Derm.* **21**, 149 (1953).
22. L. NÉKÁM und P. POLGÁR, *Acta Dermato. Venereol.* **30**, 200 (1950).
23. E. SCHRAUFSTÄTTER, *Z. Naturf.* **5b**, 190 (1950).
24. *U.S. Pat.* 2502528 (1950); *Chem. Abstr.* 6888/c (1950).
25. *Swiss Pat.* 259305; *Chem. Abstr.* 3039/i (1950).
26. K. A. LUDWIG, F. J. MURRAY, J. K. SMITH, C. R. THOMPSON und H. W. WERNER, *Antibiot. & Chemother.* **4**, 56 (1954).
27. M. SULLIVAN und E. S. BERESTON, *J. Invest. Derm.* **19**, 175 (1952).
28. A. KRAUSHAAR, *Arzneimittelforschung* **4**, 548 (1954).
29. K. S. PILCHER und A. Y. HAMILTON, *Antibiot. & Chemother.* **6**, 573 (1956).
30. H. J. LEONARD, J. A. FAUST und M. SAHYUN, *J. Amer. Pharm. Ass.* **45**, 277 (1956).
31. K. A. HOK, A. Y. HAMILTON, K. S. PILCHER und R. NIEMAN, *Antibiot. & Chemother.* **6**, 456 (1956).
32. J. D. KRAFCHUK, *J. Invest. Derm.* **27**, 149 (1956).
33. H. A. LOOS, *Arch. Derm.* **173**, 109 (1935).
34. T. SABALITSCHKA, *Ber. dtsch. pharm. Ges.* **39**, 372 (1929).
35. E. LESCHKE, *Münch. med. Wschr.* **77**, 2006 (1930).
36. H. VETTHORST, *Pharm. Monatschr.* **13**, 199 (1932).
37. M. SIEGEL, *Antibiot. & Chemother.* **3**, 478 (1953).
38. J. URI, R. BOGNÁR, I. BÉKÉSI und M. BALOGH, *Dermat. Wschr.* **132**, 942 (1954).
39. X. VILANOVA und M. CASANOVAS, *J. Invest. Derm.* **20**, 447 (1953).
40. X. VILANOVA und M. CASANOVAS, *Arch. Derm. Syph.* **189**, 254 (1949).
41. B. HEINEMANN, *J. Invest. Derm.* **9**, 277 (1947).
42. K. KOCH und M. RESIER, *Südd. Apoth. Ztg.* **89**, 225 (1949).
43. J. VON KENNEL, *Dtsch. med. Wschr.* **146**, (1949).
44. H. L. KLÖPPING und G. J. M. VAN DER KERK, *Nature, Lond.* **167**, 996 (1951).
45. J. G. HORSFALL und A. E. DIMOND, *Annu. Rev. Microbiol.* **5**, 209 (1951).
46. *U.S. Pat.* 2480533 (1949); *Chem. Abstr.* 1141/a (1950).
47. P. B. MARSH, M. L. BUTLER und B. S. CLARK, *Industr. Engng. Chem.* **41**, 2176 (1949).
48. *U.S. Pat.* 2459063 (1949); *Chem. Abstr.* 2739/h (1949).
49. R. PFLEGER, E. SCHRAUFSTÄTTER und F. GEHRINGER, *Z. Naturf.* **4b**, 344 (1949).
50. R. RICHTER, *Arch. Derm. Syph.* **190**, 563 (1950).
51. R. RICHTER und E. SCHRAUFSTÄTTER, *Arch. Derm. Syph.* **190**, 546 (1950).
52. J. R. FREY, *Dermatologica* **107**, 88 (1953).
53. J. R. FREY, *Dermatologica* **107**, 60 (1953).
54. *U.S. Pat.* 2469437 und 2469438 (1949); *Chem. Abstr.* 6452/d (1949).
55. *D.R. Pat.* 63550 (1949).
56. *U.S. Pat.* 2410281 (1946); *Chem. Abstr.* 1381/i (1947).
57. H. C. SPENCER, V. K. ROWE, E. M. ADAMS und D. D. IRISH, *J. Ind. Hyg. Toxicol.* **30**, 10 (1948), *Chem. Abstr.* 1665/f (1948).
58. GARDNER und HOPKINS, *J. Invest. Derm.* **7**, 5 (1946).
59. J. L. MILLER, F. P. LOWENFISH und G. F. BEATTIE, *J. Amer. Med. Ass.* **132**, 67 (1946).
60. M. HUPPERT, *Antibiot. & Chemother.* **7**, 29 (1957).
61. A. ALBERT, S. D. RUBBO und M. J. BURVILL, *Brit. J. Exp. Path.* **30**, 159 (1949).
62. F. URI, G. SZABÓ, D. OLÁH, *Kísérletes Orvostudomány (= Experimentelle Medizin, Hung.)* **4**; 301 (1952).