

VERSUCHE ZUR ENTDECKUNG NEUER FUNGISTATIKA—III

8-HYDROXY-CHINOLIN-DERIVATE, NITROSO-VERBINDUNGEN UND OXYME

TIBOR ZSOLNAI

Mitteilung aus dem Hygienischen Institut* der Medizinischen
Universität in Debrecen, Ungarn

(Received 24 March 1961)

Abstract—The fungistatic effect of forty one 8-hydroxychinolin derivatives, thirty three nitroso compounds, twenty oxymes and ten phenanthrolin derivatives have been investigated on liquid mash-medium containing 10% cattle serum, and on solid medium containing 3% agar. At the same time the mechanism of action was studied using those compounds which proved to be most active. A relationship was sought between the chelate-complex-forming ability and the fungistatic efficiency of the compounds. The effect of the agents on the fungistatic activity was investigated in relation to reaction mechanism.

The 8-hydroxy-chinolin derivatives, which were found to be most effective, exercise their fungistatic action by interfering with indirect intercellular oxidation of SH-groups in important sulphhydryl enzymes. The same conclusion has been reached by Rubbo and his collaborators using bacteria.

The mechanism of action of 2:2'-dipyridyl and 1:10-phenanthrolin-hydrochloride proved to be entirely different from those of 8-hydroxy-chinolin-derivatives. These compounds exercise their fungistatic activity simply by means of intercellular chelation of the heavy metal components in certain enzymes of fungus-cells. These enzymes are inactivated and this prevents multiplication.

No mechanism for the fungistatic action of nitroso-compounds could be proposed.

IM ERSTEN Teil unserer Mitteilungsserie befassten wir uns mit der *in vitro* ausgeübten fungistatischen Wirkung von Phenol-Derivaten,¹ im II Teil aber mit derjenigen verschiedener Nitro-Verbindungen, sowie mit dem Wirkungsmechanismus derer unter diesen, die dabei aktiv gefunden wurden.²

In dieser Mitteilung wollen wir uns mit der fungistatischen Wirkung der 8-Hydroxy-chinolin-Derivate, der Nitroso-Verbindungen und der Oxyme beschäftigen und unsere Versuche zur Erkennung des Wirkungsmechanismus derjenigen bekannt machen, die unter ihnen am intensivsten wirksam gefunden wurden.

Die 8-Hydroxy-chinolin-Derivate bilden eine eigentümliche Gruppe der Fungistatika phenolischer Natur. Nur jene Mitglieder dieser Familie von Verbindungen haben eine fungistatische Wirkung, in denen die phenolische Hydroxy-Gruppe frei ist und an das Carbon-Atom 8 des Chinolin-Skeletts gebunden wird; die 5- oder 6-Hydroxy-chinolin-Derivate bleiben dagegen wirkungslos. Unter den 8-Hydroxy-chinolin-Derivaten wurde vor allem der "Mutterstoff" selbst, d.h. das 8-Hydroxy-chinolin³⁻¹⁰ auf die verschiedenen Pilzstämme *in vitro* als beträchtlich fungistatisch bzw. fungizid wirksam gefunden, sowie dessen Kupfer-Chelat-Komplex,⁶⁻¹¹ ferner das 8-Hydroxy-

* Vorstand: Universitätsprofessor Dr. med. Endre Jeney.

chinolindin^{3, 4} und die 5:7-Dihalogen-Derivate des 8-Hydroxy-chinolins und des 8-Hydroxy-chinaldins und deren Kupfer-Chelate-Komplexe.^{3, 4, 9-17}

Das 8-Hydroxy-chinolin und das 5:7-Dichlor-8-hydroxy-chinaldin erwiesen sich in den Fällen von Fussmykosen auch klinisch als therapeutisch wirksam.^{12, 18, 19}

Die 8-Hydroxy-chinolin-Derivate sind *keine spezifischen Antimikotyka*. Ihre entwicklungshemmende Wirkung beschränkt sich keineswegs auf die verschiedenen Pilzarten, sondern erstreckt sich auf alle gram-positiven und zahlreiche gram-negativen Bakterienstämme,²⁰⁻²⁸ auf Tuberkulose-Bakterien,^{4, 29-33} ausserdem auch auf einzelne Protozoons (z.B. auf *Entamoeba histolytica*³⁴⁻⁴⁴ und auf *Trichomonas vaginalis*^{36, 45, 46}).

Das 8-Hydroxy-chinolin und seine Derivate haben eine stark Chelate-Komplex-bildende Eigenschaft. Unter ihrer bakteriostatischen und fungistatischen Wirkung sowie ihrer Chelate-Komplex-bildenden Eigenschaft wurde das Bestehen eines Zusammenhangs durch zahlreiche Autoren nachgewiesen.^{5, 21-32, 47}

Aber nicht nur die 8-Hydroxy-chinolin-Derivate verfügen über eine hochgradige Chelate-Komplex-bildende Eigenschaft und zugleich über eine bakteriostatische und fungistatische Wirkung, sondern—unter anderen mehr—auch verschiedene *o*-Nitroso-phenol-Derivate,^{4, 25, 26, 28} Hydroxam-Säuren^{48, 49} und die *o*-Phenanthroline.^{50, 51}

Wir hielten für zweckmässig, unsere Ergebnisse, die wir an Hand der Untersuchung der fungistatischen Wirkung der Nitroso-phenole und Phenanthroline, sowie durch das Studium deren Wirkungsmechanismus erreichten, zugleich mit der Wirkung der 8-Hydroxy-chinolin-Derivate mitzuteilen, da es für wahrscheinlich zu erachten ist, dass diejenigen unter ihnen, welche mit Schwermetall-Ionen Chelate-Komplexe zu bilden vermögen—auch trotz der abweichenden chemischen Struktur—ihre fungistatische Wirkung auf Grund eines mehr oder weniger ähnlichen biochemischen Mechanismus ausüben wie das 8-Hydroxy-chinolin selbst und dessen aktive Derivate.

Wir hielten es für begründet, unsere Untersuchungen ausserdem auch auf die Chelate-Komplex-Bildung unfähigen Nitroso-Verbindungen und auf ihre formalen Tautomere, d.h. die Oxyme zu erstrecken, damit man an Hand der Vergleichung der Untersuchung dieser mit den Resultaten, die durch die Untersuchung der zur Chelate-Komplex-Bildung geneigten Nitroso-Verbindungen erhalten wurden, einerseits Zusammenhänge zwischen der chemischen Struktur und der fungistatischen Wirkung der Nitroso-Verbindungen finden möge; andererseits aber deshalb, damit wir über die Abhängigkeit ihrer fungistatischen Wirkung von ihrer Chelate-Komplex-bildenden Fähigkeit mit einem weiteren Geltungsbereich Feststellungen machen können.

Die Mehrheit der untersuchten Verbindungen haben wir mittels der in der chemischen Fachliteratur bekannten Methoden oder deren Anwendung auf Analoga selbst synthetisiert; die Minderheit stand uns in der Form von Handelsprodukten in "pro analysi" Qualität zur Verfügung.

Die im Laufe der Untersuchung der fungistatischen Wirkung dieser Verbindungen verfolgten Methoden waren mit denen, die in dem ersten Teil unserer Mitteilungsreihe bereits beschrieben wurden¹ ganz übereinstimmend, deshalb wollen wir hier darauf nicht mehr ausführlich eingehen.

Es soll diesmal nur erwähnt werden, dass wir auch zu diesen Untersuchungen—wie auch für unsere früheren Forschungen bezüglich der fungistatischen Wirkung der Phenol-Derivate¹ und Nitro-Verbindungen²—flüssigen Maische-Nährboden mit 10% Rinderserum-Gehalt sowie serumfreien festen Maische-Agar-Nährboden verwendet haben. Das pH der Kulturmedien betrug 6,0-6,2.

ERGEBNISSE UND BESPRECHUNG

Die Ergebnisse, die wir im Laufe der Untersuchung der *in vitro* ausgeübten fungistatischen Wirkung der 8-Hydroxy-chinolin-Derivate, Nitroso-Verbindungen, Oxyme und der zum Vergleich untersuchten Phenanthrolin-Derivate erhielten, fassten wir in den Tabellen 1, 2, und 3 zusammen.

TABELLE 1. DIE FUNGISTATISCHE WIRKUNG VON 8-HYDROXY-CHINOLIN-DERIVATEN, NITROSO-VERBINDUNGEN UND OXYMEN 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 quinckeum</i>	<i>Trichophyton gypseum</i>	<i>Epidermophyton Kaufman-Wolff</i>
I. 8-Hydroxy-chinolin-Derivate								
F/445	8-Hydroxy-chinolin	250 000	250 000	250 000	250 000	250 000	250 000	250 000
F/446	Kupfer-8-hydroxy-chinolinat	10 000	10 000	10 000	10 000	25 000	25 000	50 000
F/447	Zink-2-methyl-8-hydroxy-chinolinat							
F/448	Zink-2,5-dimethyl-8-hydroxy-chinolinat	—	—	10 000	—	10 000	10 000	10 000
F/449	5,7-Dichlor-8-hydroxy-chinolin	—	—	10 000	—	10 000	10 000	10 000
F/450	5,7-Dibrom-8-hydroxy-chinolin	250 000	250 000	250 000	250 000	250 000	250 000	250 000
F/451	5,7-Dijod-8-hydroxy-chinolin	100 000	100 000	100 000	100 000	100 000	100 000	100 000
F/452	5-Chlor-7-jod-8-hydroxy-chinolin	50 000	25 000	50 000	25 000	50 000	50 000	100 000
F/453	2-Methyl-5,7-dibrom-8-hydroxy-chinolin	250 000	250 000	250 000	250 000	250 000	250 000	250 000
F/454	5,7-Dinitro-8-hydroxy-chinolin	5000	5000	10 000	10 000	25 000	10 000	25 000
F/455	5-Nitroso-8-hydroxy-chinolin hydrochlorid	(5000)	—	5000	5000	5000	5000	5000
F/456	7-(1'-Piperidino-methyl)-8-hydroxy-chinolin dihydrochlorid	(5000)	—	5000	(5000)	10 000	10 000	10 000
F/457	7-(a-(2-Thiazolyl amino)benzyl)-8-hydroxy-chinolin	10 000	10 000	10 000	10 000	25 000	25 000	25 000
F/458	5-Phenyl-azo-8-hydroxy-chinolin	5000	5000	10 000	5000	25 000	25 000	25 000
F/459	5-(4'-Methyl-phenyl-azo)-8-hydroxy-chinolin	5000	(5000)	5000	5000	25 000	10 000	25 000
F/460	5-(4'-Aethoxy-phenyl-azo)-8-hydroxy-chinolin	5000	(5000)	5000	(5000)	10 000	10 000	10 000
F/461	5-(4'-Chlor-phenyl-azo)-8-hydroxy-chinolin	5000	(5000)	5000	(5000)	10 000	10 000	10 000
F/470	5-Phenyl-azo-7-brom-8-hydroxy-chinolin	50 000	25 000	50 000	50 000	100 000	100 000	100 000
F/471	5-(4'-Methyl-phenyl-azo)-7-brom-8-hydroxy-chinolin	50 000	25 000	50 000	50 000	100 000	100 000	100 000
F/472	5-(4'-Aethoxy-phenyl-azo)-7-brom-8-hydroxy-chinolin	50 000	25 000	50 000	50 000	100 000	100 000	100 000
F/473	5-(4'-Chlor-phenyl-azo)-7-brom-8-hydroxy-chinolin	50 000	25 000	50 000	50 000	100 000	100 000	100 000
F/474	5-Phenyl-azo-7-brom-8-hydroxy-chinolin-2'-carbonsäure	50 000	25 000	50 000	50 000	100 000	100 000	100 000
F/475	5-Phenyl-azo-7-brom-8-hydroxy-chinolin-4'-carbonsäure	50 000	25 000	50 000	50 000	100 000	100 000	100 000
F/476	5-Phenyl-azo-7-brom-8-hydroxy-chinolin-4'-sulfamid	50 000	25 000	50 000	50 000	100 000	100 000	100 000
F/477	5-(4'-(3',6'-Dimethyl-2'-pirimidyl-amino-sulfonyl)-phenyl-azo)-7-brom-8-hydroxy-chinolin	50 000	25 000	50 000	50 000	100 000	100 000	100 000
F/478	5-(4'-(6'-Methoxy-3'-piridazyl-amino-sulfonyl)-phenyl-azo)-7-brom-8-hydroxy-chinolin	50 000	25 000	50 000	50 000	100 000	100 000	100 000
F/479	5-(4'-(5'-Brom-2'-thiazolyl-amino-sulfonyl)-phenyl-azo)-7-brom-8-hydroxy-chinolin	10 000	10 000	25 000	25 000	50 000	50 000	50 000
		10 000	10 000	10 000	10 000	25 000	25 000	25 000

TABELLE 1—*fortges.*

Nr.	Verbindungen	<i>Penicillium simplicissimum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichothecium roseum</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Achorion quincceanum</i>	<i>Trichophyton gypseum</i>	<i>Epidermophyton Kaufman-Wolff</i>
F/480	5-(4'-Chlor-phenyl-azo)-7-(1"-piperidinomethyl)-8-hydroxy-chinolin	50 000	25 000	50 000	25 000	50 000	50 000	100 000
F/483	Di-(8-hydroxy-5-chinolyl)-methan	—	—	—	—	(5000)	(5000)	(5000)
F/484	Zink-2:6-dimethyl-10-hydroxy-1:5-phenanthrolinat	—	—	—	5000	(5000)	(5000)	5000
F/485	Zink-2:6:9-Trimethyl-10-hydroxy-1:5-phenanthrolinat	—	—	—	5000	(5000)	(5000)	5000
II. <i>N-Nitroso-amine</i>								
F/486	N-Nitroso-diphenylamin	—	—	5000	—	10 000	10 000	10 000
III. <i>C-Nitroso-arylamine</i>								
F/492	4-Nitroso-dimethylamin	100 000	50 000	50 000	10 000	250 000	250 000	250 000
F/493	4-Nitroso-diaethylamin	50 000	25 000	50 000	25 000	250 000	250 000	250 000
F/494	4-Nitroso-diphenylamin	—	—	5000	—	10 000	10 000	10 000
F/495	1-Nitroso-2-naphthylamin	10 000	5000	10 000	5000	10 000	10 000	25 000
F/496	4-Nitroso-1-dimethylamino-naphthalin	—	—	10 000	—	10 000	5000	5000
IV. <i>Nitroso-phenole und ihre Schwermetall-Komplexe</i>								
F/497	4-Nitroso-phenol	—	—	5000	—	5000	10 000	5000
F/498	Kupfer-2-nitroso-phenolat	—	—	5000	—	5000	5000	10 000
F/499	Kupfer-2-nitroso-4-methyl-phenolat	—	—	5000	—	10 000	10 000	10 000
F/500	Kupfer-2-nitroso-5-methyl-phenolat	—	—	—	—	10 000	10 000	10 000
F/501	Kupfer-2-nitroso-6-methyl-phenolat	—	—	—	—	10 000	10 000	10 000
F/502	Kupfer-2-nitroso-4-chlor-phenolat	—	—	—	—	5000	5000	5000
F/503	Kupfer-2-nitroso-6-chlor-phenolat	—	—	—	—	5000	5000	5000
F/504	Zink-2-nitroso-5-diaethyl-amino-phenolat	—	—	5000	—	5000	5000	5000
F/508	1-Nitroso-2-naphthol	10 000	10 000	10 000	5000	100 000	100 000	100 000
F/509	2-Nitroso-1-naphthol	10 000	10 000	10 000	5000	100 000	100 000	100 000
F/510	4-Nitroso-1-naphthol	—	—	5000	—	25 000	25 000	25 000
F/511	9-Nitroso-10-phenanthrol	10 000	10 000	25 000	10 000	100 000	100 000	100 000
V. <i>Sonstige Nitroso-Verbindungen</i>								
F/517	3:5-Dimethyl-4-nitroso-pyrazol	50 000	10 000	10 000	25 000	25 000	25 000	25 000
F/518	1-Phenyl-3:5-dimethyl-4-nitroso-pyrazol	250 000	250 000	100 000	250 000	50 000	50 000	50 000
VI. <i>Oxyme</i>								
F/522	2-Hydroxy-benzaldoxym	5000	(5000)	5000	—	5000	5000	5000
F/536	1:2-Naphtochinon-dioxym	10 000	5000	10 000	10 000	25 000	25 000	25 000
F/537	1:2-Naphtochinon-1-oxym-2-amino-guanidon	—	—	10 000	—	10 000	10 000	10 000
VII. <i>Zum Vergleich untersuchte Verbindungen</i>								
F/539	2:2'-Dipiridyl	25 000	25 000	25 000	25 000	25 000	25 000	25 000
F/540	1:10-Phenanthrolin hydrochlorid	50 000	50 000	50 000	50 000	50 000	50 000	100 000

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

— Die untersuchte Verbindung übt auch in der angewandten niedrigsten Verdünnung—in 1:5000—keine fungistatische Wirkung aus.

(5000) = Die untersuchte Verbindung kann auch in der angewandten niedrigsten Verdünnung—in 1:5000—nur eine teilweise Entwicklungshemmung des Pilzstammes herbeiführen.

Bei der Übersicht der Ergebnisse der Tabellen 1 und 2 sieht man, dass das Hydroxy-Radikal in einem jeden der von uns untersuchten Derivate des 8-Hydroxy-chinolins unsubstituiert bleibt, so ist jeder von ihnen zur Bildung der Metall-Chelate-Komplexe fähig. Die Mehrheit dieser hat sich auf flüssigen Nährboden fungistatisch mehr oder

TABELLE 2. 8-HYDROXY-CHINOLIN-DERIVATE, NITROSO-VERBINDUNGEN UND OXYME,
WELCHE IN FLÜSSIGEM SERUM-MAISCHE NÄHRBODEN AUF JEDE UNTERSUCHTE PILZ-
STÄMME VOLLSTÄNDIG UNWIRKSAM SIND

F/462	5-Phenyl-azo-8-hydroxy-chinolin-2'-carbonsäure
F/463	5-Phenyl-azo-8-hydroxy-chinolin-4'-carbonsäure
F/464	5-Phenyl-azo-8-hydroxy-chinolin-4'-sulfamid
F/465	5-(4'-(3'':6''-Dimethyl-2''-pirimidyl-amino-sulfonyl)-phenyl-azo)-8-hydroxy-chinolin
F/466	5-(4'-(6''-Methoxy-3''-piridazyl-amino-sulfonyl)-phenyl-azo)-8-hydroxy-chinolin
F/467	5-(4'-(2''-Thiazolyl-amino-sulfonyl)-phenyl-azo)-8-hydroxy-chinolin
F/468	5-(1'-Naphthyl-azo)-8-hydroxy-chinolin
F/469	4:4'-Di-(8''-Hydroxy-5''-chinolyl-azo)-diphenyl
F/481	N-(8'-Hydroxy-5'-chinolyl)-1:4-benzochinon-monoimin
F/482	N-(8'-Hydroxy-5'-chinolyl)-1:4-benzochinon-diimin
F/487	N-Nitroso-diaethylamin
F/488	N-Nitroso-di-(n-butyl)-amin
F/489	N-Nitroso-piperidin
F/490	N;N'-Dinitroso-piperazin
F/491	N;N'-Dinitroso-pentamethylen-tetramin
F/505	2:6-Dinitroso-resorzin
F/506	2:6-Dinitroso-5-methyl-resorzin
F/507	2:6-Dinitroso-4-n-hexyl-resorzin
F/512	1-Nitroso-2-naphtol-6-sulfonsäure-Na
F/513	2-Nitroso-1-naphtol-4-sulfonsäure-Na
F/514	1-Nitroso-2-naphtol-3:6-disulfonsäure-Na
F/515	Natrium-1-nitroso-2-naphtyl-diazotat
F/516	5-Nitroso-barbitursäure (=Violursäure)
F/519	isoNitroso-aceton
F/520	n-Butyraldoxym
F/521	Benzaldoxym
F/523	4-Hydroxy-benzaldoxym
F/524	Furfuraldoxym
F/525	Heptanon-2-oxym
F/526	Cyklopentanon-oxym
F/527	Cyklohexanon-oxym
F/528	l-Menthon-oxym
F/529	d-Campher-oxym
F/530	Acetophenon-oxym
F/531	Dimethyl-glioxyml
F/532	1:4-Benzochinon-dioxym
F/533	1:4-Benzochino-1-oxym-4-aminoguanidon hydrochlorid
F/534	2-Hydroxy-3-nitroso-1:4-benzochinon-1-oxym-4-aminoguanidon hydrochlorid
F/535	2-Hydroxy-3-nitroso-5-n-hexyl-1:4-benzochinon-1-oxym-4-aminoguanidon
F/538	1:2-Naphthochinon-2-oxym-1-aminoguanidon
F/541	2-Methyl-1:10-phenanthrolin
F/542	2:4-Dimethyl-1:10-phenanthrolin
F/543	2:9-Dimethyl-1:10-phenanthrolin
F/544	N-Aethyl-1:10-phenanthrolinium aethylsulfat
F/545	1:5-Phenanthrolin
F/546	2:6-Dimethyl-1:5-phenanthrolin
F/547	1:8-Phenanthrolin
F/548	2:7-Dimethyl-1:8-phenanthrolin

weniger wirksam erwiesen. Trotz des Umstandes, dass ihre Mehrheit im allgemeinen mehr oder weniger fungistatisch wirkt, kann man doch feststellen, dass unter ihnen ausser dem 8-Hydroxy-chinolin selbst nur deren 5:7-Dihalogen- 5:7-Dinitro- und 7-Brom-5-aryl-azo-Derivate eine hochgradige fungistatische Wirkung besitzen, jedoch mit Ausnahme der Nr. F/480.

Die 5-Aryl-azo-8-hydroxy-chinoline von Nr. F/462-467, welche in ihrem Molekül zur Säuredissoziation geneigte —COOH bzw. —SO₂NH— Gruppe enthalten, bleiben wirkungslos, in Gegensatz zu den solche Gruppe nicht enthaltenden wirksamen Azo-Verbindungen von Nr. F/458-461. Ihre 7-Brom-Derivate (Nr. F/474-479) verfügen zugleich über das gleiche Mass von fungistatischer Wirkung wie die 5-Aryl-azo-7-brom-8-hydroxy-chinoline, die keine —COOH oder —SO₂NH— Gruppe enthalten (Nr. F/470-473).

TABELLE 3. DIE FUNGISTATISCHE WIRKUNG VON 8-HYDROXY-CHINOLIN-DERIVATEN, NITROSO-VERBINDUNGEN UND OXYMEN AUF FESTEM MAISCHE-AGAR NÄHRBODEN

Nr.	Verbindungen	<i>Penicillium simpli-cissimum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichothecium roseum</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
F/445	8-Hydroxy-chinolin	42	25	55	40	30
F/449	5:7-Dichlor-8-hydroxy-chinolin	20	18	23	20	25
F/450	5:7-Dibrom-8-hydroxy-chinolin	14	10	15	12	12
F/451	5:7-Dijod-8-hydroxy-chinolin	10	10	12	10	10
F/452	5-Chlor-7-jod-8-hydroxy-chinolin	15	15	20	17	18
F/454	5:7-Dinitro-8-hydroxy-chinolin	30	45	33	30	30
F/492	4-Nitroso-dimethylanilin	45	35	40	40	35
F/493	4-Nitroso-diaethylanilin	45	35	32	38	36
F/494	4-Nitroso-diphenylamin	10	10	10	10	10
F/495	1-Nitroso-2-naphtylamin	10	12	20	10	12
F/499	Kupfer-2-nitroso-4-methyl-phenolat	10	10	10	10	10
F/501	Kupfer-2-nitroso-6-methyl-phenolat	10	—	12	12	12
F/502	Kupfer-2-nitroso-4-chlor-phenolat	10	10	10	10	10
F/503	Kupfer-2-nitroso-6-chlor-phenolat	10	—	10	—	10
F/508	1-Nitroso-2-naphtol	20	18	20	20	20
F/509	2-Nitroso-1-naphtol	18	12	20	15	16
F/511	9-Nitroso-10-phenanthrol	12	10	12	12	15
F/517	3:5-Dimethyl-4-nitroso-pyrazol	22	27	22	10	10
F/518	1-Phenyl-3:5-dimethyl-4-nitroso-pyrazol	50	45	40	27	32
F/522	2-Hydroxy-benzaldoxym	13	—	12	10	10
F/536	1:2-Naphthochinon-dioxym	15	—	20	15	15
F/539	2:2'-Dipiridyl	18	15	25	22	22
F/540	1:10-Phenanthrolin hydrochlorid	35	25	40	30	26

Die in der Tabelle stehenden Ziffern bezeichnen die Durchmesser der durch die einzelnen Verbindungen herbeiführten wachstumsgehemmten Gebiete in mm ausgedrückt.

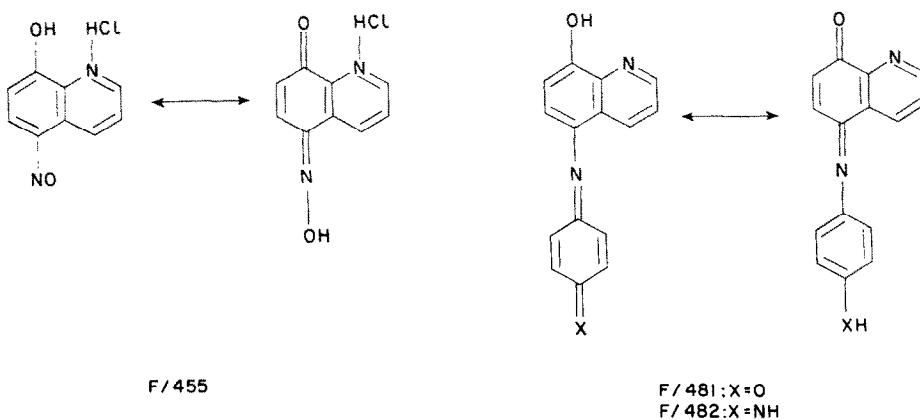
— = Die Verbindung übt auf den angewandte Pilzstamm keine fungistatische Wirkung aus.

Jene von den untersuchten Verbindungen 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.

Das Dihydrochlorid des 7-(1'-Piperidino-methyl)-8-hydroxy-chinolins (Nr. F/456) besitzt nur einen niedrigen Wirkungsgrad, sein 5-(4"-Chlor-phenyl-azo)-Derivat (Nr. F/480) hat aber eine bedeutende Wirksamkeit.

Die aus 8-Hydroxy-chinaldin stammenden Verbindungen von Nr. F/447, 448, 453, 484 und 485 haben wir nur in geringem Masse wirksam gefunden. Die Azo-Verbindungen Nr. F/468, 469 sind wirkungslos. Die Wirkungslosigkeit ist damit zu erklären, dass sie wegen ihrer geringen Lösbarkeit die zur Herbeiführung der Fungistase nötige minimale Konzentration im Nährboden nicht erreichen.

Das 5-Nitroso-8-hydroxy-chinolin hydrochlorid (Nr. F/455) ist nur sehr mässig wirksam, die Verbindungen von Nr. F/481, und 482 sind aber völlig wirkungslos. Die Ursache des geringen Wirkungsgrades der Nr. F/455 und die Wirkungslosigkeit der Nr. F/481 und 482 ist darin zu suchen, dass ihr Aufbau dem Grenzfall der 5-substituierten 8-Hydroxy-chinolin-Struktur und zur Bildung der Chelate-Komplexe unfähigen Chinolin-5:8-chinon-5-oxym, bzw. der Chinolin-5:8-chinon-5-imin Struktur entspricht.



Nicht nur die 8-Hydroxy-chinolin-Derivate, sondern auch die 2-Nitroso-Derivate der Phenole besitzen eine bedeutende Chelate-Komplex-bildende Eigenschaft. Die Kupfer bzw. Zink-Komplexe des 2-Nitroso-phenols und dessen substituierten Derivate (Nr. F/498–504) sind auf flüssigem Nährboden nur auf das apathogene *Trichothecium roseum*, das mauspathogene *Achorion quinckeanum*, das menschenpathogene *Trichophyton gypseum* und das *Epidermophyton Kaufman-Wolff* fungistatisch wirksam, sie wirken jedoch selbst auf diese Pilzstämme nur in einer verhältnismässig geringen Verdünnung. Die niedere Stufe ihrer fungistatischen Wirkung soll—wenigstens zum Teil—with ihrer geringen Lösbarkeit im Nährboden in Zusammenhang stehen.

Das 1-Nitroso-2-naphtol (Nr. F/508), das 2-Nitroso-1-naphtol (Nr. F/509) und das 9-Nitroso-10-phenanthrol (Nr. F/511) erwiesen sich als fungistatisch besonders wirksam.

Das zur Chelate-Komplex-Bildung unfähige 4-Nitroso-phenol (Nr. F/497) und das 4-Nitroso-1-naphtol (Nr. F/510) sind zwar fungistatisch wirksam, ihr Wirkungsgrad ist aber verhältnismässig nur von geringem Masse. Ihr Wirkungsmechanismus ist

auch vermutlich ganz verschiedenartig, als derjenige der zur Chelate-Komplex-Bildung fähigen Nitroso-phenole und Nitroso-naphtole.

Das 2:6-Dinitroso-resorzin (Nr. F/505) und dessen Alkyl-Derivate (Nr. F/506, 507), sowie ihre Mono-aminoguanidone (Nr. F/534, 535), ferner die 5-Nitroso-barbitursäure (Nr. F/516) verfügen zwar über eine Chelate-Komplex-bildende Eigenschaft, sind aber fungistatisch wirkungslos. Die Ursachen ihrer Wirkungslosigkeit sind uns unbekannt. Ebenso wirkungslos sind die Sulfonsäure-Salze der Nitroso-naphtole und auch das Natrium-1-nitroso-2-naphtyl-diazotat (Nr. F/512-515). Die Ursache ihrer Wirkungslosigkeit liegt wohl darin, dass wegen des niedrigen Verteilungsquotienten zwischen Lipoid und Wasser diese Verbindungen die aus Lipoproteiden und Chitin bestehende Zellenwand der Pilze nicht durchdiffundieren können.

Die von uns untersuchten N-Nitroso-amine, C-Nitroso-arylamine—mit Ausnahme der Nr. F/495—sowie die 4-Nitroso-pyrazole haben keine Chelate-Komplex-bildende Eigenschaft. Unter diesen verfügen einzelne (Nr. F/486, 494, 496) über eine mässige, andere dagegen (Nr. F/492, 493, 517, 518) über eine beträchtliche fungistatische Wirksamkeit. Ihr Wirkungsmechanismus ist offenbar ganz andersartig, als diejenige der zur Chelate-Komplex-Bildung fähigen Nitroso-phenole. In der Reihe der untersuchten C-Nitroso-arylaminen besitzt eine Verbindung, das 1-Nitroso-2-naphtylamin (Nr. F/495) Chelate-Komplex-bildende Fähigkeit und zugleich auch eine mässige fungistatische Wirkung. Ihr Wirkungsmechanismus ist vermutlich ähnlich als derjenige der Nitroso-naphtole.

In der Reihe der untersuchten Aldoxyme, Ketoxyde, Chinonoxyme (und der Aminoguanidone der letzteren) sind nur das 2-Hydroxy-benaldoxym (Nr. F/522), das 1:2-Naphtochinon-dioxym (Nr. F/536), das 1:2-Naphtochinon-1-oxym-2-aminoguanidon (Nr. F/537), das 1:2-Naphtochinon-2-oxym-1-aminoguanidon (Nr. F/538) und das Dimethyl-glioxym (Nr. F/531) zur Chelate-Komplex-Bildung geneigt; die letzten zwei Verbindungen sind wirkungslos, während die ersten drei Verbindungen fungistatisch sich als mässig wirksam erweisen.

Das zum Vergleich untersuchte 2:2'-Dipiridyl (Nr. F/539) und das 1:10-Phenanthrolin hydrochlorid (Nr. F/540)—welche in starkem Masse Chelate-Komplex-bildend sind—zeigten sich fungistatisch beträchtlich wirksam. Einige von uns untersuchten Derivate des 1:10-Phenanthrolins, sowie seine Isomere—die zur Bildung von Chelate-Komplexen unfähig sind (Nr. F/541-548)—bekundeten dagegen eine gänzliche Wirkungslosigkeit.

Aus dem Durchblick der Ergebnisse der Tabelle 3, kann man ersehen, dass unter den untersuchten Verbindungen auf festem Nähroden sich viel wenigere fungistatisch wirkend gefunden wurden, als auf einem flüssigen Kulturmedium. Diese Erscheinung lässt sich wohl darauf zurückführen, dass die Diffusion der Mehrheit der untersuchten Verbindungen im festen Nährboden—wegen ihrer bedeutenden Molekülausmasse und infolge ihrer geringen Lösbarkeit—nur einen geringen Grad erreichte, oder aber vermochten sie überhaupt nicht in den Nähr-Agar zu diffundieren.

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN WIRKUNGSMECHANISMUS

Indem das 8-Hydroxy-chinolin und seine Derivate—an Hand der bisherigen Erfahrungen—in Bezug auf ihre biologischen Auswirkungen qualitative im allgemeinen

keine beachtungswerte Organismus-Spezifität aufweisen, so kann man mit Recht voraussetzen, dass sie ihre fungistatische Wirkung wohl auf Grund eines ähnlichen Mechanismus ausüben müssen, wie ihre bakteriostatische Wirkung.

Zahlreiche Autoren haben nachgewiesen, dass die bakteriostatische Wirkung des 8-Hydroxy-chinolins und einiger Derivate dessen durch einige Schwermetall-Ione abgewehrt werden kann.²¹⁻³²

Daraus kann man den Schluss ziehen, dass in dem biochemischen Mechanismus ihrer bakteriostatischen Wirkung auf irgendwelche Weise —mittelbar oder unmittelbar —ihre Chelate-Komplex-bildende Fähigkeit entscheidend mitwirken soll.

Nach den Erfahrungen von Zentmyer⁴⁷ sowie Uri und Szabó⁵ kann nicht nur die bakteriostatische, sondern auch die fungistatische Wirkung des 8-Hydroxy-chinolins durch einzelne Schwermetall-Ione abgewehrt werden. Daraus kann man die Folgerung ziehen, dass der biochemische Mechanismus der fungistatischen Wirkung des 8-Hydroxy-chinolins mehr oder weniger ähnlich sein kann, als der Wirkungsmechanismus seiner bakteriostatischen Wirkung.

Jeney und Zsolnai haben den Beweis erbracht, dass einzelne Schwermetall-Ione nicht nur die bakteriostatische Wirkung des 8-Hydroxy-chinolins zu beeinflussen vermögen, sondern auch dieselbe der 10-Hydroxy-phenanthroline, der Nitroso-naphtole und des 2:2'-Dipiridyls.²⁵⁻²⁸

Wenn man dies berücksichtigt, scheint es naheliegend zu sein, dass die Fähigkeit der Chelate-Komplex-Bildung nicht nur im Wirkungsmechanismus des 8-Hydroxy-chinolins und einiger Derivate desselben eine entscheidende Rolle spielen sollte, sondern auch in dem Wirkungsmechanismus von Verbindungen anderen Typus wesentlich mitwirken mag.

Nach Rubbo, Albert and Gibson übt das 8-Hydroxy-chinolin (und auch seine aktiven Derivate) ihre bakteriostatische Wirkung dadurch aus, dass es mit den Schwermetall-Ionen im Nährboden Chelate-Komplexe bilden, welche die Weg-Oxidierung der SH-Radikale einzelner lebenswichtiger Sulfhydryl-Enzyme der Bakterien katalisieren.^{22, 23}

Wenn das 8-Hydroxy-chinolin und dessen einzelne Derivate ihren fungistatischen Einfluss wirklich durch indirekte, d.h. durch gewissen Metall-Chelate-Komplexe erfolgte Destruktion der Sulfhydryl-Enzyme der Pilzzellen bewirken, so muss in diesem Falle diese fungistatische Wirkung nicht nur durch einzelne Schwermetall-Ione, sondern auch durch reduzierende Stoffe abgewehrt werden können, welche die Fort-Oxidierung der SH-Radikale verhindern.

Im Laufe unserer Wirkungsmechanismus-Untersuchungen haben wir folgende Probleme studiert:

(a) Welche Schwermetall-Ione vermögen die fungistatische Wirkung einiger von uns am wirksamsten gefundener Chelate-Komplex-bildenden Verbindungen sowohl auf flüssigem als auch auf festem Maische-Nährboden abzuwehren?

(b) Inwiefern deren fungistatische Wirksamkeit, sowie die Beeinflussbarkeit derselben infolge einzelner Schwermetall-Ione durch die Gegenwart von Serum im Nährboden beeinflusst werden kann?

(c) Ob jene Schwermetall-Ione, welche ihre fungistatische Wirkung auf flüssigem Nährboden abwehren können, die durch sie bewirkte Fungistase nicht nur abzuwehren, sondern auch aufzuheben vermögen.

(d) Ob reduzierende Stoffe, wie Cystein hydrochlorid, Natrium-thioglycolat und Ascorbinsäure auf festem Nährboden die fungistatische Wirkung der 8-Hydroxy-chinolin-Derivate abzuwehren imstande sind?

Indem es anzunehmen war, dass einige andere von uns untersuchte Verbindungen mit Chelate-Komplex-bildender Eigenschaft und auch mit einer bedeutenden fungistatischen Wirkung ihren fungistatischen Einfluss auf Grund eines mehr oder ähnlichen Mechanismus ausüben, wie das 8-Hydroxy-chinolin uns dessen Derivate—obwohl sie in Bezug auf ihre chemische Struktur von den vorigen und auch voneinander bedeutend abweichen, jedoch betreffs einer Eigenschaft, nähmlich ihre Fähigkeit um Schwermetall-Ione zu chelatieren, einander ähnlich sind—deshalb haben wir die in den vorangehenden a.-d. Punkten erwähnten Untersuchungen auch auf diese ausgedehnt.

Die Nitroso-Verbindungen von Nr. F/492, 493, 517 und 518 besitzen zwar keine Chelate-Komplex-bildende Fähigkeit, sie erwiesen sich jedoch im Laufe unserer Untersuchungen fungistatisch als beträchtlich wirksam. Ihr Wirkungsmechanismus ist offenbar ganz andersartig, als derselber der Chelate-Komplex-bildenden Verbindungen, deshalb haben wir die in dem a.-c. Punkten angeführten Untersuchungen mit ihnen nicht durchgeführt. Wegen der Reaktivität ihrer Moleküle sind sie immerhin vielseitiger chemischer Reaktionen fähig, so kann es vorausgesetzt werden, dass sie mit einzelnen Sulfhydryl-Enzymen entweder auf Grund eines Kondensations-oder gar eines einfachen oxydativen Mechanismus reagieren und jene dadurch inaktivieren können und dass sie ihre fungistatische Wirkung entweder vermittels eines solchen oder diesem ähnlichen Mechanismus ausüben imstande sind.

Indem diese unsere Annahme sich als stichhaltig erweist, so müssen Verbindungen mit Sulfhydryl-Radikal (oder eventuell auch andere Reduktionsmittel) ihre fungistatischen Wirkung abwehren können. Deshalb haben wir die im Punkt d. erwähnten Untersuchungen auch bei den Verbindungen von Nr. F/492, 493, 517 und 518 durchgeführt.

Für unsere Versuche über den Wirkungsmechanismus haben wir als Test-Organismus *Penicillium simplicissimum* und *Saccharomyces cerevisiae* angewandt. Das pH des serumfreien als auch des serumhaltigen flüssigen und festen Maische-Nährbodens, sowie des Cystein-hydrochlorid, Natriumthioglycolat, Ascorbinsäure, bzw. Schwermetallsalze enthaltenden festen Maische-Nährbodens betrug gleicherweise 6,0-6,2.

A. UNTERSUCHUNGSMETHODE

Aus den Prüfgläsern, die 5 ml Maische- bzw. Serum-Maische-Nährboden enthielten, haben wir—bei strenger Beobachtung der Regeln der Sterilität—mit einer Pipette Mengen von 1, 0,5, 0,2, 0,1 ml ausgenommen, dann haben wir an deren statt die 0,5, 0,25, 0,1, 0,05 ml Mengen der wässrigen Lösungen von Na-Salzen bzw. Hydrochloriden der untersuchten Verbindungen von M/100 bzw. M/1000 Konzentration und ähnliche Mengen aus den wässrigen Lösungen von M/50 bzw. M/500 Konzentration der zu den Untersuchungen verwendeten Schwermetall-Salze eingemessen. In die Prüfgläser, in welche keine Metall-Salz-Lösungen gegeben wurden, welche also bloss die untersuchte Chelate-Komplex-bildende Verbindung enthielten, haben wir

statt der Metall-Salzlösung die entsprechende Menge sterilen destillierten Wassers gegeben.

So waren die untersuchten Verbindungen in den einzelnen Prüfgläsern in M/1000, M/2000, M/5000, M/10 000, M/20 000, M/50 000, M/100 000 Konzentration, die zu der Untersuchung angewandten Schwermetall-Salze dagegen in M/500, M/1000, M/2500, M/5000, M/10 000, M/25 000 und M/50 000 Konzentration anwesend. Es fielen also 2 mol Schwermetall-Ione gleicherweise in einer jeden Konzentration auf 1 mol Chelate-Komplex-bildende Verbindung.

Danach haben wir die Prüfgläser mit der Sporensuspension des *Penicillium simplicissimum* bzw. des *Saccharomyces cerevisiae* infiziert und darauf durch 5 Tage in einem Thermostat von 30 °C inkubieren lassen. Nach Verlauf der Inkubationszeit haben wir die Ergebnisse an Hand des Wachstums im Vergleich zu den Kontrollen ausgewertet.

Die zu den Versuchen angewandten Schwermetall-Salze haben an sich allein selbst in M/500 Konzentration die Vermehrung weder des *Penicillium simplicissimum* noch des *Saccharomyces cerevisiae* beeinflussen können.

Andere Einzelheiten der Untersuchungsmethode (z.B. die Zahl der Parallele, die Zubereitung der zur Inokulation notwendigen Sporensuspension, die Temperatur usw.) waren gänzlich identisch mit denen, die im ersten Teil unserer Mitteilungsserie beschrieben wurden.¹

Die Resultate dieser Untersuchungen haben bloss gezeigt, ob irgendein Schwermetall-Ion, das dem Nährboden mit dem wirksamen Agens nahezu gleichzeitig zugegeben wurde, imstande sein kann, die fungistatische Wirkung dieses Agens abzuwehren, die er auf das—zum System später zugegebene—*Penicillium simplicissimum* bzw. *Saccharomyces cerevisiae* ausübt. Deshalb nennen wir diese Versuche "Abwehrversuche".

Die Abwehr der fungistatischen Wirkung der Chelate-Komplex-bildenden Verbindungen durch irgendein Schwermetall-Ion mag auch die Folge eines einfachen extrazellulären Vorganges sein. Z.B. die Lösbarkeit des Komplexes irgendeiner Chelate-Komplex-bildenden Verbindung, die mit einem Schwermetall-Ion extrazellular gebildet wurde, vermag sehr niedrigen Grades zu sein und dadurch kann die Konzentration des Agens bzw. des Agens-Schwermetall-Komplexes im Nährboden unter die Grenzkonzentration von fungistatischer Wirkung sinken. Wegen dieser Umstände können zwar Versuche dieser Art in Bezug auf den Wirkungsmechanismus der Chelate-Komplex-bildenden Vergbindungen einen informativen Wert besitzen, sie bringen aber doch kein sicheres Ergebnis für uns.

Mit Rücksicht darauf haben wir ausser den "Abwehrversuchen" auch "Aufhebungsversuche" ausgeführt, im Verlaufe derjenigen wir nur insofern von der vorher berichteten Methode abgewichen waren, dass wir die Nährböden nach Einmessen der untersuchten Verbindungen infizierten und zu den Prüfgläsern, worin wir nach 5 Tage Inkubationsdauer eine gänzliche Fungistase beobachteten, haben wir *erst danach* die Schwermetall-Salzlösungen von entsprechender Konzentration zugegeben. Die Ergebnisse haben wir nach einer weiteren Inkubation von 5 Tagen ausgewertet, an Hand ihres Vergleiches mit den Kontrollen, die zwar gleicherweise zubereitet, doch anstatt der Metall-Salzlösungen eine entsprechende Menge steriles destilliertes Wasser enthielten und gleichfalls eine Gesamt-Inkubationszeit von 10 Tagen benötigten.

Zur Entscheidung der Frage, ob die fungistatische Wirkung der untersuchten Chelate-Komplex-bildenden Verbindungen im Laufe dieser Versuche durch irgendein Schwermetall-Ion nur deshalb nicht aufgehoben werden konnte, da sie eventuell während der Einwirkungsdauer auf das *Penicillium simplicissimum* oder auf das *Saccharomyces cerevisiae* eine fungizide Wirkung ausühte, haben wir je eine Menge von 0,1 ml—vor der Zugabe der Metall-Salze zu den Prüfgläsern, die die untersuchten Verbindungen enthielten, jedoch von einer Pilzentwicklung frei waren—aus den einzelnen Prüfgläsern mit Pipette (aus einem jeden Glas mit anderer Pipette!) herausgenommen, diese Menge zu 5 ml Maische-Nährboden gegeben und *erst danach* die entsprechenden Mengen der Schwermetall-Salzlösungen ihnen zugegeben.

Die auf diese Weise “infizierten” Prüfgläser haben wir für 5 Tage in einen Thermo-
stat von 30 °C Temperatur gestellt und die in ihnen erfolgte Entwicklung des *Penicillium simplicissimum* und des *Saccharomyces cerevisiae* nach dieser Inkubationsdauer abgelesen.

Indem in den Prüfgläsern, dessen Gehalt aus jenen Prüfgläsern stammte, welche die untersuchten Verbindungen in M/1000 Konzentration nach 5 tägiger Inkubationszeit enthielten, in 5 Tagen die Entwicklung des *Penicillium simplicissimum* oder des *Saccharomyces cerevisiae* beobachtet werden konnte, haben wir es als bestätigt erachtet, dass die untersuchte Verbindung in M/1000 Konzentration während der 5 Tage Dauer ihrer Einwirkung auf die erwähnten Pilzstämme fungizid wirkungslos blieb; also wenn irgendein Schwermetall-Ion deren fungistatische Wirkung nicht aufhebt, so ist es nicht darauf zurückzuführen, dass die betreffende Verbindung die Pilzsporen während 5 Tage tötete und deren Wirkung somit *schon vornherein* nicht aufgehoben werden kann, sondern lässt sich eben dem Umstand zuschreiben, dass sie in den Pilzsporen diejenigen durch die Verbindung bewirkten intrazellularen biochemischen Veränderungen nicht mehr reversibel zu machen vermag, infolge deren die Vermehrung des *Penicillium simplicissimum* und des *Saccharomyces cerevisiae* gehemmt wurde—welche biochemische Veränderung jedoch die Zelle nicht tötete, sondern nur deren Vermehrung vorübergehend hemmte.

Also während wir den im Laufe der “*Abwehrversuche*” wirkten hemmenden Einfluss der untersuchten Chelate-Komplex-bildenden Verbindungen auf die Vermehrung des *Penicillium simplicissimum* und des *Saccharomyces cerevisiae* mittels der verschiedenen Schwermetall-Ionen *eventuell nur extrazellular* beeinflussen konnten, so liefern die Ergebnisse unserer “*Aufhebungsversuche*” auch darauf Antwort, ob deren fungistatische Wirkung durch Schwermetall-Ione auch *intrazellular* beeinflusst werden kann, d.h. durch diese Agenzien *auch in der Zelle herbeigeführten* biochemischen Veränderungen durch die erwähnten Schwermetall-Ione reversibel gemacht werden könnten.

“*Abwehrversuche*” haben wir nicht nur auf flüssigem, sondern auch auf festem Nährboden ausgeführt.

Zu diesen unseren Untersuchungen haben wir in 0,1% Schwermetall-Salze, bzw. in 0,3% Cystein-hydrochlorid, Natrium-thioglycolat, bzw. Askorbinsäure enthaltende Maische-Agar Nährböden verwendet.

B. ERGEBNISSE

Die Resultate unserer Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus haben wir in den Tabellen 4, 5, 6, 7, 8 zusammengefasst.

TABELLE 4. DIE ABWEHRUNG DER FUNGISTATISCHEN WIRKUNG CHELATE-KOMPLEX-BILDENDER VERBINDUNGEN DURCH SCHWERMETALL-IONE AUF FLÜSSIGEM NÄHRBODEN

Nr.	Verbindungen	Die zum Nährboden hinzugefügten Schwermetallione	Die fungistatisch wirkende molare Grenzkonzentration der Verbindung			
			auf Maische-Nährboden	auf 10% Rinderserum enthaltendem Maische-Nährboden	auf Maische-Nährboden	auf 10% Rinderserum enthaltendem Maische-Nährboden
			<i>Penicillium simplicissimum</i>		<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
F/445	8-Hydroxy-chinolin	— Cu ²⁺ Fe ²⁺ Zn ²⁺ Mn ²⁺ Co ²⁺ MoO ₄ ²⁻	M/ 20 000 M/100 000	M/ 20 000 M/100 000	M/ 20 000 M/100 000	M/ 20 000 M/100 000
F/449	5:7-Dichlor-8-hydroxy-chinolin	— Cu ²⁺ Fe ²⁺ Zn ²⁺ Mn ²⁺ Co ²⁺ MoO ₄ ²⁻	M/ 50 000	M/ 50 000	M/ 50 000	M/ 50 000
F/450	5:7-Dibrom-8-hydroxy-chinolin	— Cu ²⁺ Fe ²⁺ Zn ²⁺ Mn ²⁺ Co ²⁺ MoO ₄ ²⁻	M/ 50 000	M/ 50 000	M/ 50 000	M/ 50 000
F/451	5:7-Dijod-8-hydroxy-chinolin	— Cu ²⁺ Fe ²⁺ Zn ²⁺ Mn ²⁺ Co ²⁺ MoO ₄ ²⁻	M/ 20 000 M/ 1000	M/ 20 000 M/ 1000	M/ 20 000 M/ 1000	M/ 20 000 M/ 1000
F/452	5-Chlor-7-jod-8-hydroxy-chinolin	— Cu ²⁺ Fe ²⁺ Zn ²⁺ Mn ²⁺ Co ²⁺ MoO ₄ ²⁻	M/ 50 000	M/ 50 000	M/ 50 000	M/ 50 000
F/454	5:7-Dinitro-8-hydroxy-chinolin	— Cu ²⁺ Fe ²⁺ Zn ²⁺ Mn ²⁺ Co ²⁺ MoO ₄ ²⁻	M/ 50 000	M/ 20 000	M/ 20 000	M/ 20 000
F/495	1-Nitroso-2-naphtylamin	— Cu ²⁺ Fe ²⁺ Zn ²⁺ Mn ²⁺ Co ²⁺ MoO ₄ ²⁻	M/ 2000 M/ 2000	M/ 2000 M/ 2000	M/ 2000 M/ 2000	M/ 2000 M/ 2000

TABELLE 4—*fortges.*

Nr.	Verbindungen	Die zum Nährboden hinzugefügten Schwermetallione	Die fungistatisch wirkende molare Grenzkonzentration der Verbindung					
			auf Maische-Nährboden		auf 10% Rinderserum enthaltendem Maische-Nährboden		auf Maische-Nährboden	
			Penicillium	simplicissimum	Saccharomyces cerevisiae			
F/508	1-Nitroso-2-naphtol	—	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
		Cu ²⁺	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
		Fe ²⁺	—	—	—	—	—	—
		Zn ²⁺	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
		Mn ²⁺	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
		Co ²⁺	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
		MoO ₄ ²⁻	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
F/509	2-Nitroso-1-naphtol	—	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
		Cu ²⁺	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
		Fe ²⁺	—	—	—	—	—	—
		Zn ²⁺	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
		Mn ²⁺	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
		Co ²⁺	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
		MoO ₄ ²⁻	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
F/511	9-Nitroso-10-phenanthrol	—	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
		Cu ²⁺	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
		Fe ²⁺	—	—	—	—	—	—
		Zn ²⁺	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
		Mn ²⁺	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
		Co ²⁺	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
		MoO ₄ ²⁻	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
F/536	1:2-Naphtochinon-dioxym	—	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
		Cu ²⁺	M/ 1000	M/ 1000	M/ 1000	M/ 1000	M/ 1000	M/ 1000
		Fe ²⁺	—	—	—	—	—	—
		Zn ²⁺	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
		Mn ²⁺	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
		Co ²⁺	M/ 1000	M/ 1000	M/ 1000	M/ 1000	M/ 1000	M/ 1000
		MoO ₄ ²⁻	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000
F/539	2:2'-Dipiridyl	—	M/ 5000	M/ 5000	M/ 5000	M/ 5000	M/ 5000	M/ 5000
		Cu ²⁺	—	—	—	—	—	—
		Fe ²⁺	—	—	—	—	—	—
		Zn ²⁺	—	—	—	—	—	—
		Mn ²⁺	M/ 5000	M/ 5000	M/ 5000	M/ 5000	M/ 5000	M/ 5000
		Co ²⁺	—	—	—	—	—	—
		MoO ₄ ²⁻	M/ 5000	M/ 5000	M/ 5000	M/ 5000	M/ 5000	M/ 5000
F/540	1:10-Phenanthrolin hydrochlorid	—	M/ 20000	M/ 20000	M/ 20000	M/ 20000	M/ 20000	M/ 20000
		Cu ²⁺	—	—	—	—	—	—
		Fe ²⁺	—	—	—	—	—	—
		Zn ²⁺	—	—	—	—	—	—
		Mn ²⁺	M/ 20000	M/ 20000	M/ 20000	M/ 20000	M/ 20000	M/ 20000
		Co ²⁺	—	—	—	—	—	—
		MoO ₄ ²⁻	M/ 20000	M/ 20000	M/ 20000	M/ 20000	M/ 20000	M/ 20000

— = Die untersuchte Verbindung übt in der Anwesenheit des betreffenden Schwermetall-Ions—unter den angewandten Versuchsbedingungen—noch in der Konzentration von M/1000 keine fungistatische Wirkung aus.

TABELLE 5. DIE ABWEHRUNG DER FUNGISTATISCHEN WIRKUNG CHELATE-KOMPLEX-BILDENDER VERBINDUNGEN DURCH SCHWERMETALL-SALZE AUF FESTEN NÄHRBODEN

Nr.	Verbindungen	<i>Penicillium simplicissimum</i>					
		(ohne Zugaben)	CuSO ₄ ·5H ₂ O	FeSO ₄ ·7H ₂ O	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	MnCl ₂ ·4H ₂ O	Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O
F/445	8-Hydroxy-chinolin	42	18	10	—	42	—
F/449	5:7-Dichlor-8-hydroxy-chinolin	20	—	—	20	17	—
F/450	5:7-Dibrom-8-hydroxy-chinolin	14	—	—	10	13	—
F/452	5-Chlor-7-iod-8-hydroxy-chinolin	15	—	—	15	15	—
F/454	5:7-Dinitro-8-hydroxy-chinolin	30	—	—	—	32	—
F/508	1-Nitroso-2-naphitol	20	—	—	20	20	—
F/509	2-Nitroso-1-naphitol	18	—	—	17	15	19
F/511	9-Nitroso-10-phenanthrol	12	—	—	11	13	18
F/536	1:2-Naphthochinon-dioxym	15	—	—	14	14	13
F/539	2:2-Dipiridyl	18	—	—	—	17	12
F/540	1:10-Phenanthroin hydrochlorid	35	—	—	—	20	—

Nr.	Verbindungen	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>					
		—	CuSO ₄ ·5H ₂ O	FeSO ₄ ·7H ₂ O	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	MnCl ₂ ·4H ₂ O	Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O
F/445	8-Hydroxy-chinolin	30	20	10	—	31	—
F/449	5:7-Dichlor-8-hydroxy-chinolin	25	—	—	20	20	—
F/450	5:7-Dibrom-8-hydroxy-chinolin	12	—	—	12	10	—
F/452	5-Chlor-7-iod-8-hydroxy-chinolin	18	—	—	20	20	—
F/454	5:7-Dinitro-8-hydroxy-chinolin	30	—	—	—	28	—
F/508	1-Nitroso-2-naphitol	20	—	—	19	20	—
F/509	2-Nitroso-1-naphitol	16	—	—	15	16	17
F/511	9-Nitroso-10-phenanthrol	15	—	—	13	13	15
F/536	1:2-Naphthochinon-dioxym	15	—	—	15	14	16
F/539	2:2-Dipiridyl	22	—	—	—	20	11
F/540	1:10-Phenanthroin hydrochlorid	26	—	—	—	—	—

Die Durchmesser der wachstumsgehemmten Gebiete in mm ausgedrückt auf Maische-Agar Nährboden

Die Durchmesser der wachstumsgehemmten Gebiete in mm ausgedrückt auf Maische-Agar Nährboden

TABELLE—5 fortges.

Nr.	Verbindungen	<i>Penicillium simplicissimum</i>					$(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$
		$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	
Die Durchmesser der wachstumsgehemmten Gebiete in mm ausgedrückt auf Serum-Maische-Agar Nährboden							
F/445	8-Hydroxy-chinolin	42	10	—	—	40	—
F/449	5:7-Dichlor-8-hydroxy-chinolin	20	—	—	—	17	—
F/450	5:7-Dibrom-8-hydroxy-chinolin	14	—	—	—	10	—
F/452	5-Chlor-7-jod-8-hydroxy-chinolin	15	—	—	—	13	—
F/454	5:7-Dinitro-8-hydroxy-chinolin	30	—	—	—	—	—
F/508	1-Nitroso-2-naphthol	20	—	—	—	18	—
F/509	2-Nitroso-1-naphthol	18	—	—	—	18	20
F/511	9-Nitroso-10-phenanthrol	12	—	—	—	12	18
F/536	1:2-Naphthochinon-dioxym	15	—	—	—	15	13
F/539	2:2-Dipiridyl	18	—	—	—	15	14
F/540	1:10-Phenanthrolin hydrochlorid	35	—	—	—	22	—
Die Durchmesser der wachstumsgehemmten Gebiete in mm ausgedrückt auf Serum-Maische-Agar Nährboden							
Nr.	Verbindungen	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>					$(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$
		$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	
F/445	8-Hydroxy-chinolin	30	18	12	—	30	—
F/449	5:7-Dichlor-8-hydroxy-chinolin	25	—	—	—	19	—
F/450	5:7-Dibrom-8-hydroxy-chinolin	12	—	—	—	10	—
F/452	5-Chlor-7-jod-8-hydroxy-chinolin	18	—	—	—	20	—
F/454	5:7-Dinitro-8-hydroxy-chinolin	30	—	—	—	—	—
F/508	1-Nitroso-2-naphthol	20	—	—	—	18	20
F/509	2-Nitroso-1-naphthol	16	—	—	—	16	15
F/511	9-Nitroso-10-phenanthrol	15	—	—	—	13	13
F/536	1:2-Naphthochinon-dioxym	15	—	—	—	13	12
F/539	2:2-Dipiridyl	22	—	—	—	20	—
F/540	1:10-Phenanthrolin hydrochlorid	26	—	—	—	—	—

Die Verbindung übt auf dem Pilzstamm—unter den angewandten Versuchsbedingungen—keine fungistatische Wirkung aus

TABELLE 6. DIE AUFHEBBARKEIT DER FUNGISTATISCHEN WIRKUNG CHELATE-KOMPLEX-BILDENDER VERBINDUNGEN DURCH SCHWERMETALL-IONE AUF FLÜSSIGEN NÄHRBÖDEN

Nr.	Verbindungen	Die fungistatisch wirkende molare Grenzkonzentration der Verbindung					
		auf Maische-Nährboden			auf 10% Rinderserum ehtlatendem Maische-Nährboden		
		nach 5 tägiger Inkubationszeit	nach 10 tägiger Inkubationszeit	nach 5 tägiger Inkubationszeit	<i>Penicillium simplicissimum</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Penicillium simplicissimum</i>
	Die zum Nährboden hinzugefügten Schwermetall-Ionen	<i>Penicillium simplicissimum</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Penicillium simplicissimum</i>	<i>Penicillium simplicissimum</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Penicillium simplicissimum</i>
F/445	8-Hydroxy-chinolin	M/20 000	M/20 000	M/10 000	M/20 000	M/20 000	M/20 000
F/449	5:7-Dichlor-8-hydroxy-chinolin	—	M/50 000	M/50 000	M/50 000	M/50 000	M/50 000
F/450	5:7-Dibrom-8-hydroxy-chinolin	—	M/50 000	M/50 000	M/50 000	M/50 000	M/50 000
F/451	5:7-Dijod-8-hydroxy-chinolin	—	M/20 000	M/20 000	M/20 000	M/20 000	M/20 000
F/452	5-Chlor-7-jod-8-hydroxy-chinolin	—	M/50 000	M/50 000	M/50 000	M/50 000	M/50 000
F/454	5:7-Dinitro-8-hydroxy-chinolin	—	M/50 000	M/20 000	M/20 000	M/50 000	M/10 000

TABELLE 6.—*fortges.*

Nr.	Verbindungen	Die fungistatisch wirkende molare Grenzkonzentration der Verbindung					
		auf Maische-Nährboden			auf 10% Rinderserum ehtlatendem Maische-Nährboden		
		nach 5 tägiger Inkubationszeit	nach 10 tägiger Inkubationszeit		nach 5 tägiger Inkubationszeit	nach 10 tägiger Inkubationszeit	
		<i>Penicillium simplissimum</i>	<i>Penicillium simplissimum</i>	<i>Penicillium simplissimum</i>	<i>Penicillium simplissimum</i>	<i>Penicillium simplissimum</i>	<i>Penicillium simplissimum</i>
		<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
F/454 <i>fortges.</i>	Fe^{2+} Zn^{2+} Co^{2+} MoO_4^{2-}	M/ 2000	M/ 2000	M/ 10 000	M/20 000 M/20 000 M/20 000	M/ 2000	M/10 000 M/50 000 M/20 000 M/50 000
F/495	1-Nitroso-2-naphthylamin	$\overline{\text{Fe}^{2+}}$ Co^{2+}	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000 M/ 2000 M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000 M/ 2000 M/ 2000
F/508	1-Nitroso-2-naphthol	$\overline{\text{Fe}^{2+}}$	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000 M/ 2000 M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000 M/ 2000 M/ 2000
F/509	2-Nitroso-1-naphthol	$\overline{\text{Fe}^{2+}}$	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000 M/ 2000 M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000 M/ 2000 M/ 2000
F/511	9-Nitroso-10-phenanthrol	$\overline{\text{Fe}^{2+}}$	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000 M/ 2000 M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000 M/ 2000 M/ 2000
F/536	1:2-Naphthochinon-dioxym	$\overline{\text{Fe}^{2+}}$	M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000 M/ 2000 M/ 2000	M/ 2000	M/ 2000 M/ 2000 M/ 2000
F/539	2:2'Dipiridyl	$\overline{\text{Cu}^{2+}}$ Fe^{2+} Zn^{2+} Co^{2+}	M/ 5000	M/ 5000	M/ 5000 — — —	M/ 5000	M/ 5000 — — —
F/540	1:10-Phenanthrolin hydrochlorid	$\overline{\text{Cu}^{2+}}$ Fe^{2+} Zn^{2+} Co^{2+}	M/20 000	M/20 000	M/20 000 — — —	M/20 000	M/10 000 — — —

Siehe Zeichenerklärung der Tabelle 4.

TABELLE 7. DIE FUNGIZIDE WIRKUNG CHELATE-KOMPLEX-BILDENDER VERBINDUNGEN
AUF FLÜSSIGEM MAISCHE-NÄHRBODEN
(Einwirkungsdauer: 5 Tage.)

Nr.	Verbindungen	Die fungizid wirkende molare Grenzkonzentration der Verbindung	
		<i>Penicillium simplicissimum</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
F/445	8-Hydroxy-chinolin	< M/ 1000	< M/ 1000
F/449	5:7-Dichlor-8-hydroxy-chinolin	M/ 2000	M/ 1000
F/450	5:7-Dibrom-8-hydroxy-chinolin	< M/ 1000	< M/ 1000
F/451	5:7-Dijod-8-hydroxy-chinolin	< M/ 1000	< M/ 1000
F/452	5-Chlor-7-jod-8-hydroxy-chinolin	M/ 2000	M/ 2000
F/454	5:7-Dinitro-8-hydroxy-chinolin	M/10 000	M/ 5000
F/495	1-Nitroso-2-naphtylamin	M/ 2000	M/ 2000
F/508	1-Nitroso-2-naphtol	M/ 2000	M/ 2000
F/509	2-Nitroso-1-naphtol	M/ 2000	M/ 2000
F/511	9-Nitroso-10-phenanthrol	M/ 2000	M/ 2000
F/536	1:2-Naphtochinon-dioxym	M/ 2000	M/ 2000
F/539	2:2'-Dipiridyl	< M/ 1000	< M/ 1000
F/540	1:10-Phenanthrolin hydrochlorid	< M/ 1000	< M/ 1000

Nach Durchschau der Ergebnisse der Tabellen 4.—8. lässt folgendes feststellen:

(1) Durch die Fe^{2+} -Ione wird die fungistatische Wirkung eines jeden Gliedes der von uns betreffs ihres Wirkungsmechanismus untersuchten 8-Hydroxy-chinolin-Derivate auf flüssigem serumlosem Nährboden gänzlich abgewehrt; die Cu^{2+} -Ione steigern die fungistatische Wirkung des 8-Hydroxy-chinolins um das Fünffache des Ursprünglichen und sie wehren diejenige der übrigen untersuchten 8-Hydroxy-chinolin-Derivate gänzlich oder beinahe gänzlich ab.

Die fungistatische Wirkung einiger 8-Hydroxy-chinolin-Derivate wird durch Co^{2+} -Ione gänzlich abgewehrt, diejenige anderer aber wesentlich vermindert. Ihre fungistatische Wirkung wird im allgemeinen durch die MoO_4^{2-} -Ione vermindert, durch die Zn^{2+} und Mn^{2+} -Ione dagegen nicht beeinflusst.

Die fungistatische Wirkung der untersuchten Nitroso-phenole wird durch die Fe^{2+} -Ione abgewehrt, durch die bei den Versuchen angewandten übrigen Schwermetall-Ione dagegen nicht beeinflusst.

Die fungistatische Wirkung des 1-Nitroso-2-naphtylamins (Nr. F/495) und 1:2-Naphtochinon-dioxym (Nr. F/536) wird durch Fe^{2+} -Ione abgewehrt.

Die Wirkung des früheren (Nr. F/495) wehren auch die Co^{2+} -Ione ab, diejenige des letzteren (Nr. F/536) dagegen nur vermindern. Die fungistatische Wirkung des 1-Nitroso-2-naphtylamins (Nr. F/495) wird durch Cu^{2+} , Zn^{2+} und Mn^{2+} -Ione nicht beeinflusst; die des 1:2-Naphtochinon-dioxym (Nr. F/536) wird durch Cu^{2+} vermindert, durch Zn^{2+} und Mn^{2+} -Ione dagegen nicht beeinflusst.

Die fungistatische Wirkung des 2:2'-Dipiridyls (Nr. F/539) und des 1:10-Phenanthrolin-hydrochlorids (Nr. F/540) wird durch Mn^{2+} und MoO_4^{2-} -Ione nicht beeinflusst, durch Cu^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} , und Co^{2+} -Ione aber abgewehrt.

(2) Auf festem Nährboden wehren die Fe^{2+} und Co^{2+} -Ione die fungistatische Wirkung eines jeden von diesen ab; gleicherweise wirken auch die Cu^{2+} -Ione, mit Ausnahme die des 8-Hydroxy-chinolins.

TABELLE 8. DIE DURCH REDUZIERENDE STOFFE VERURSACHTE BEEINFLUSSUNG DER AUF FESTEM MAISCHE-AGAR NÄHRBODEN AUSGEFÜBTEN FUNGISTATISCHEN WIRKUNG VON CHELATE-KOMPLEX-BILDENDEN UND AUCH ZUR CHELATE-KOMPLEX-BILDUNG UNFÄHIGEN VERBINDUNGEN

Nr.	Verbindungen	<i>Penicillium simplicissimum</i>			<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		
		(ohne Zugaben)	0,3% Cystein hydrochlorid	0,3% Na-Thioglycolat	0,3% Ascorbinsäure	(ohne Zugaben)	0,3% Na-Thioglycolat
F/445	8-Hydroxy-chinolin	42	30	40	42	30	18
F/449	5,7-Dichlor-8-hydroxy-chinolin	20	17	20	25	20	27
F/450	5,7-Dibrom-8-hydroxy-chinolin	14	10	14	10	12	20
F/452	5-Chlor-7-iod-8-hydroxy-chinolin	15	10	15	12	18	12
F/454	5,7-Dinitro-8-hydroxy-chinolin	30	23	28	15	30	15
F/508	1-Nitroso-2-naphthol	20	19	20	—	20	—
F/509	2-Nitroso-1-naphthol	18	18	17	12	16	16
F/511	9-Nitroso-10-phenanthrol	12	10	12	10	15	12
F/536	1,2-Naphthochinon-dioxym	15	15	14	12	15	14
F/539	2,2'-Dipiridyl	18	15	16	18	22	20
F/540	1,10-Phenanthrolin hydrochlorid	35	25	30	29	26	22
F/492	4-Nitroso-dimethylamin	45	—	33	—	35	26
F/493	4-Nitroso-diaethylamin	45	—	30	—	36	25
F/517	3,5-Dimethyl-4-nitroso-pyrazol	22	12	20	—	10	—
F/518	1-Phenyl-3,5-dimethyl-4-nitroso-pyrazol	50	15	50	—	32	32

Siehe Zeichenerklärung der Tabelle 3.

Die fungistatische Wirkung des 8-Hydroxy-chinolins wird zwar durch die Cu^{2+} -Ione auf festem Nährboden nicht völlig abgewehrt, doch beträchtlich vermindert.

Die Zn^{2+} und MoO_4^{2-} -Ione vermögen auf festem Nährboden die fungistatische Wirkung des 8-Hydroxy-chinolins (Nr. F/445), des 5:7-Dinitro-8-hydroxy-chinolins (Nr. F/454), des 2:2'-Dipiridyls (Nr. F/539) und des 1:10-Phenanthrolin-hydrochlorids (Nr. F/540) abzuwehren und diejenige des 5-Chlor-7-jod-8-hydroxy-chinolins (Nr. F/452) zu vermindern.

MoO_4^{2-} -Ione können die fungistatische Wirkung der untersuchten Chelate-Komplex-bildenden Verbindungen—mit Ausnahme die der 2-Nitroso-phenol-Derivate (Nr. F/508, 509, 511) und des 1:2-Naphtochinon-dioxym (Nr. F/536)—auf festem Nährboden gänzlich abwehren; die Mn^{2+} -Ione sind dagegen nicht imstande auch eine der untersuchten Chelate-Komplex-bildenden Verbindungen signifikant zu beeinflussen.

(3) Die Gegenwart von 10% Rinderserum im flüssigen und festen Nährboden kann die fungistatische Wirksamkeit der untersuchten Chelate-Komplex-bildenden Verbindungen nicht beeinflussen (in Gegensatz zu derjenigen zahlreicher Phenol-Derivate; -s. Teil I unserer Mitteilungsserie), weder auf die Beeinflussbarkeit ihrer fungistatischen Wirkung mittels Schwermetall-Ione einwirken.

(4) Die Resultate unserer "Aufhebungsversuche" beweisen, dass die auf flüssigem Nährboden ausgeübte fungistatische Wirkung des 8-Hydroxy-chinolins (Nr. F/445) durch Fe^{2+} und MoO_4^{2-} -Ione innerhalb gewisser Konzentrationsgrenzen bedeutend aufgehoben werden kann; Co^{2+} -Ione können dessen fungistatischen Einfluss auf *Saccharomyces cerevisiae* etwas vermindern, denjenigen auf *Penicillium simplicissimum* jedoch nicht beeinträchtigen.

Die fungistatische Wirkung der betreffs des Wirkungsmechanismus von uns untersuchten Derivate des 8-Hydroxy-chinolins wird durch die Cu^{2+} -Ione in einer gegenüber ihrer fungizid wirkenden Konzentration geringeren Verdünnung völlig aufgehoben, durch die Fe^{2+} -Ione gleichfalls gänzlich oder beinahe; durch die Zn^{2+} , Co^{2+} und MoO_4^{2-} -Ione werden sie jedoch entweder gar nicht (oder nur in geringem, unbedeutendem Masse) beeinflusst.

Die untersuchten Chelate-Komplex-bildenden Nitroso-Verbindungen (Nr. F/495, 508, 509, 511) und das 1:2-Naphtochinon-dioxym (Nr. F/536) erweisen sich in ihrer fungistatisch wirkenden Grenzkonzentration zugleich auch als fungizid wirksam, so vermögen Schwermetall-Ione schon von vornherein nicht deren Wirkung aufzuheben, was auch durch unsere mit Fe^{2+} -Ionen ausgeführten "Aufhebungsversuche" bestätigt wird.

Die fungistatische Wirkung des 2:2'-Dipiridyls (Nr. F/539) und des 1:10-Phenanthrolin-hydrochlorids wird durch Cu^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} und Co^{2+} -Ione gleicherweise gänzlich aufgehoben.

Die Ergebnisse der "Aufhebungsversuche" erweisen sich als gänzlich identisch sowohl auf serumfreiem also auch auf 10% Rinderserum enthaltendem flüssigem Maische-Agar-Nährboden.

(5) Das 8-Hydroxy-chinolin (Nr. F/445) und dessen 5:7-Dibrom und 5:7-Dijod-Derivate (Nr. F/450 und F/451) üben auf *Penicillium simplicissimum* und *Saccharomyces cerevisiae* während 5 Tage Einwirkungszeit noch in der Konzentration von M/1000 keine fungizide Wirkung aus; dessen 5:7-Dichlor- (Nr. F/449) und

5-Chlor-7-jod-Derivate (Nr. F/452) üben dagegen auf beide Mikroorganismen-Arten eine fungizide Wirkung aus.

Das 5:7-Dinitro-8-hydroxy-chinolin (Nr. F/454) ist unter den angewandten Versuchsumständen auf das *Penicillium simplicissimum* in der Konzentration von M/10 000, auf das *Saccharomyces cerevisiae* aber in M/5000 fungizid wirkend.

Die fungizide Grenzkonzentration der Nitroso-Verbindungen von Nr. F/495, 508, 509, 511 sowie des 1:2-Naphtochinon-dioxym (Nr. F/536) ist auf beide Mikroorganismus-Stämme gleichfalls M/2000.

Das 2:2'-Dipiridyl (Nr. F/539) und das 1:10-Phenanthrolin-hydrochlorid (Nr. F/540) erwiesen sich selbst in M/1000 Konzentration fungizid wirkungslos.

(6) Die fungistatische Wirkung des 4-Nitroso-dimethyl-anilins und des 4-Nitroso-diaethyl-anilins (Nr. F/492 und 493) wird durch die Zugabe von 0,3% Na-Thioglycolat zum Maische-Agar-Nährboden etwas vermindert; es kann aber keine der von uns betreffs ihres Wirkungsmechanismus untersuchten Verbindungen wesentlich beeinflussen.

Die fungistatische Wirkung des 8-Hydroxy-chinolins (Nr. F/445), des 5:7-Dinitro-8-hydroxy-chinolins (Nr. F/457), des 1:10-Phenanthrolin-hydrochlorids (Nr. F/540) wird durch Cystein-hydrochlorid (gleichfalls in 0,3% Konz.) mittelmässig vermindert; es wehrt vollkommen die fungistatische Wirkung des 4-Nitroso-dimethyl-anilins (Nr. F/492) und des 4-Nitroso-diaethyl-anilins (Nr. F/493) ab, vermindert bedeutend die des 3:5-Dimethyl-4-nitroso-pyrazols (Nr. F/517) und dessen 1-Phenyl-Derivats (Nr. F/518). Es kann jedoch die fungistatische Wirksamkeit der auf Tabelle 8 angeführten anderen Verbindungen signifikant nicht beeinflussen.

Die zum Nährboden in 0,3% Konzentration gegebene Ascorbinsäure vermindert wesentlich die auf das *Penicillium simplicissimum* und auch auf *Saccharomyces cerevisiae* ausgeübte fungistatische Wirkung des 5:7-Dinitro-8-hydroxy-chinolins (Nr. F/454) und des 1-Nitroso-2-naphtols (Nr. F/508) und wehrt diejenige von F/492, 493, 517 und 518 ab.

Die Ascorbinsäure wehrt die auf das *Saccharomyces cerevisiae* ausgeübte fungistatische Wirkung des 8-Hydroxy-chinolins und dessen 5:7-Dichlor-, 5:7-Dibrom-, 5-Chlor-7-jod-Derivate (Nr. F/445, 449, 450, 452) ab, sie kann aber ihre auf *Penicillium simplicissimum* ausgeübte Wirkung wesentlich nicht beeinflussen.

Die Ascorbinsäure vermag die fungistatische Wirkung weder der Verbindungen von Nr. F/509, 511, 536, noch diejenige des 2:2'-Dipiridyls und des 1:10-Phenanthrolin-hydrochlorids (Nr. F/539 und 540) auf irgendeinen Pilzstamm signifikant zu vermindern.

C. BESPRECHUNG

Wenn wir die Resultate überblicken, die wir im Laufe der Untersuchung der Abwehr und Aufhebung der auf *Penicillium simplicissimum* und auf *Saccharomyces cerevisiae* ausgeübten fungistatischen Wirkung der von uns hinsichtlich ihres Wirkungsmechanismus untersuchten Chelate-Komplex-bildenden Verbindungen mittels verschiedener Schwermetall-Ione gewonnen haben, kommen wir zu folgenden Schlussfolgerungen:

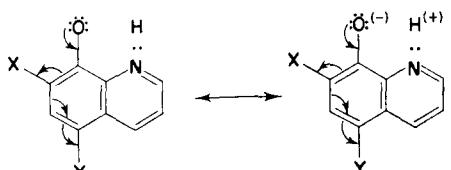
(a) Einige Schwermetall-Ione können die fungistatische Wirkung der 8-Hydroxy-chinolin-Derivate nicht nur abwehren, sondern auch aufheben. Ihre fungistatische Wirkung können also einige Schwermetall-Ione nicht nur durch die mit ihnen

verbundene extrazellulare Chelate-Komplex-Bildung verhindern, sondern vermögen auch die durch sie intrazellular bewirkte Enzym-Hemmung auch wirklich aufzuheben.

Die in der Abwehr der fungistatischen Wirkung und andererseits in der Aufhebung dieser Wirkung mitwirkenden aktiven Schwermetall-Ione brauchen nicht unbedingt identisch zu sein.

(b) Indem die fungistatische Wirkung des 8-Hydroxy-chinolins nicht genau durch dieselben Schwermetall-Ione abgewehrt bzw. aufgehoben wird—oder nicht unbedingt in demselben Masse—as die Wirkung einiger seiner wirksamen Derivate, deshalb müssen wir voraussetzen, dass deren Angriffspunkt innerhalb der Zellen eines und desselben Pilzstammes je nach den Verbindungen voneinander abweichend sind.

(c) Die fungistatische Wirkung der von uns untersuchten Halogen- und Nitro-Derivate des 8-Hydroxy-chinolins ist wahrscheinlich deshalb intensiver als diejenige des 8-Hydroxy-chinolins selbst, da sie infolge des elektrophilen Charakters der in ihren Molekülen anwesenden Halogen-Atome bzw. Nitro-Gruppen in grösserem Masse als Zwitter-Ione zu dissoziieren vermögen, als das unsubstituierte 8-Hydroxy-chinolin; infolgedessen ist die Intensität ihrer Chelate-Komplex-bildenden Fähigkeit—womit ihre fungistatische Wirkung mehr oder weniger eng zusammenhängt—hochgradiger, als diejenige des unsubstituierten 8-Hydroxy-chinolins. Die Reaktion der Chelate-Komplex-Bildung zwischen den 8-Hydroxy-chinolin-Derivaten und Schwermetall-Ionen ist nach ihrem Wesen ionischer Natur, d.h. es sind eigentlich die Zwitter-Ionformen dieser Verbindungen, die mit den Schwermetall-Ionen in Reaktion treten: In anschaulicher Form:



X, Y = Halogen-Atome, bzw. Nitro-Gruppen

(d) Indem die fungistatische Wirkung der 8-Hydroxy-chinolin-Derivate auf festem Nährboden durch Cystein-hydrochlorid oder Ascorbinsäure im allgemeinen mehr oder weniger vermindert werden kann, deren auf *Saccharomyces cerevisiae* ausgeübter fungistatischer Einfluss sogar—immerhin mit Ausnahme den der Verbindung von Nr. F/454—durch Ascorbinsäure gänzlich aufgehoben wird, so müssen wir voraussetzen, dass der Mechanismus ihrer fungistatischen Wirkung ähnlich sein soll, als derjenige ihrer bakteriostatischen Wirkung: sie bilden nämlich mit einzelnen im Nährboden anwesenden Schwermetall-Ionen Lipoid-lösliche Chelate-Komplexe von der Zusammensetzung 2 mol Agens: 1 mol Schwermetall, welche durch die Zellwand dringend sich in Komplexe von der Zusammensetzung 1 mol Agens: 1 mol Schwermetall verwandeln, und diese letzteren katalisieren die Fort-Oxidierung der SH-Radikale einiger lebenswichtiger Sulfhydryl-Enzyme der Mikroorganismen (Siehe die Untersuchungen von *Rubbo* und Mitarbeitern²²⁻²³).

Die reduzierenden Stoffe können vermutlich ihre fungistatische Wirkung dadurch abwehren, dass sie die Fort-Oxidierung der Sulfhydryl-Radikale durch die

Chelate-Komplexe der 8-Hydroxy-chinolin-Derivate verhindern, oder aber dadurch, dass sie die zu —S—S-Gruppen oxidierten (und dadurch inaktivierten) Sulfhydryl-Radikale der Sulfhydryl-Enzyme wieder zu aktiven —SH-Gruppen reduzieren.

Die Möglichkeit der Aufhebung der fungistatischen Wirkung der 8-Hydroxy-chinolin-Derivate durch einige Schwermetall-Ione erklären wir so, dass jene das 8-Hydroxy-chinolin-Derivat-Me⁺-Komplex—das die Fort-oxidierung der Sulfhydryl-Enzyme katalisiert—intrazellular kompetitive umwandeln in irgendeinen zu dieser katalytischen Reaktion unfähigen 8-Hydroxy-chinolin-Derivat-Me⁺-Komplex und dadurch die Reduktion der geschädigten Sulfhydryl-Enzyme durch andere Vorgänge der Mikroorganismenzellen ermöglichen, welche Zelle zwar Stoffwechsel ausüben, aber sich nicht vermehren; dadurch wird der weiteren Vermehrung Veranlassung gegeben.

Die Abwehr der fungistatischen Wirkung der 8-Hydroxy-chinolin-Derivate durch einzelne Schwermetall-Ione (z.B. durch Fe²⁺) erfolgt vermittels eines den früheren gleichen Mechanismus; ihre Abwehr durch andere Ione (z.B. durch Co²⁺) lässt sich aber wahrscheinlich dem Umstand zuschreiben, dass jene mit ihnen extrazellular einen Chelate-Komplex von der Zusammensetzung 2 mol Agens : 1 mol Schwermetall bilden; Die Lösbarkeit dieses Komplexes in dem Nährboden ist aber so niedrigen Grades, dass die Konzentration des betreffenden 8-Hydroxy-chinolin-Derivates (bzw. dessen Schwermetall-Komplexes) in dem Nährboden dadurch unter die Grenzkonzentration fungistatischer Wirkung sinkt.

(e) Der Mechanismus der fungistatischen Wirkung des 2:2'-Dipiridyls (Nr. F/539) und des 1:10-Phenanthrolin-hydrochlorids (Nr. F/540) ist ganz andersartig, als derjenige der 8-Hydroxy-chinolin-Derivate. Deren fungistatische Wirkung wird durch reduzierende Stoffe wesentlich nicht vermindert; sie kann durch Cu²⁺, Fe²⁺, Zn²⁺, Co²⁺-Ione gleicherweise gänzlich abgewehrt und auch aufgehoben werden.

Mit Rücksicht darauf müssen wir voraussetzen, dass diese zwei Verbindungen ihre fungistatische Wirkung einfach durch die intrazellulare Chelatierung der Schwermetall-Komponenten gewisser schwermetallhaltiger Enzyme zur Geltung bringen, die zur Vermehrung der Pilz-Zellen unumgänglich notwendig sind. Die betreffenden Enzyme werden dadurch inaktiviert, welche Inaktivität infolge der zum Nährboden im Überschuss zugegebenen Schwermetall-Ione wieder aufgehoben werden kann.

(f) Im fungistatischen Wirkungsmechanismus der Nitroso-Verbindungen von Nr. F/495, 508, 509, 511, sowie des 1:2-Naphtochinon-dioxums (Nr. F/536) soll vermutlich auf irgendeine Weise auch ihre chelatierende Fähigkeit mitwirken, dies bildet jedoch wahrscheinlich keinen so entscheidenden Faktor für ihren Wirkungsmechanismus, wie für den der 8-Hydroxy-chinolin-Derivate. Der Mechanismus ihrer fungistatischen Wirkung soll auf der *spezifischen und irreversiblen* Hemmung eines bisher noch unbekannten intrazellularen biochemischen Vorganges der Pilz-Zellen beruhen.

(g) Die Abwehr bzw. die Verminderung der fungistatischen Wirkung der zur Chelate-Komplex-Bildung unfähigen Verbindungen von Nr. F/492, 493, 517 und 518 mittels reduzierenden Stoffen können wir damit erklären, dass ihre Nitroso-Gruppe durch die reduzierenden Stoffe extrazellular zu Amino-Gruppen reduziert und demzufolge sie in inaktive Verbindungen verwandelt werden. Daraus ergibt sich zugleich auch die Folge, dass die Nitroso-Gruppe in ihrem Molekül die Vorbedingung für ihre fungistatische Wirksamkeit bildet.

Wir müssen voraussetzen, dass die fungistatische Wirkung der Verbindungen von Nr. F/492, 493, 517 und 518 durch ihre Nitroso-Gruppe veranlasst wird, welche Wirkung diese Gruppen durch Reagierung mit gewissen reaktiven Radikalen näher noch nicht bekannter, doch zur Vermehrung unumgänglich notwendiger Enzyme der Pilz-Zellen ausüben.

ZUSAMMENFASSUNG

Verfasser hat die fungistatische Wirkung von 41 8-Hydroxy-chinolin-Derivaten, 33 Nitroso-Verbindungen, 20 Oxymen und 10 Phenanthrolin-Derivaten auf einem 10% Rinderserum enthaltenden flüssigen und 3% Agar enthaltenden festen Maische-Nährboden untersucht und zugleich auch den Wirkungsmechanismus derjenigen studiert, die unter diesen am wirksamsten gefunden wurden. Er suchte in der Reihe dieser Verbindungen Zusammenhänge zu finden einerseits zwischen der Chelate-Komplex-bildenden Fähigkeit und der fungistatischen Wirksamkeit, andererseits aber zwischen der Beeinflussbarkeit der fungistatischen Wirkung durch reduzierende Stoffe und dem Wirkungsmechanismus.

Er suchte dabei Schlüsse bezüglich des Wirkungsmechanismus dieser Reihe von Verbindungen zu ziehen.

LITERATUR

1. T. ZSOLNAI, *Biochem. Pharmacol.* **5**, 1 (1960).
2. T. ZSOLNAI, *Biochem. Pharmacol.* **5**, 287 (1961).
3. E. SCHRAUFSTÄTTER, R. RICHTER und W. DITSCHEID, *Arch. Derm. Syph.* **188**, 259 (1949–50).
4. E. SCHRAUFSTÄTTER, *Z. Naturf.* **5b**, 190 (1950).
5. J. URI und G. SZABÓ, *Acta Phys. Acad. Sci. Hung.* **3**, 425 (1952).
6. P. GAVANDAN, *Mém. Serv. Chim. État (Paris)* **32**, 418 (1945); *Chem. Abstr.* p. 5601 (1948).
7. K. A. OSTER und M. J. GOLDEN, *J. Amer. Pharm. Ass.* **37**, 429 (1948).
8. W. O. KERMACK, *Sci. Progr.* **36**, 283 (1948).
9. W. JADASSOHN und E. PFANNER, *Dermatologica* **91**, 46 (1945).
10. W. JADASSOHN, E. PFANNER und W. HAUSMANN, *Schweiz. Med. Wochenschr.* **77**, 987 (1947).
11. R. W. MARSH, *Nature, Lond.* **167**, 97 (1951).
12. M. L. LITTMAN, *Trans. N.Y. Acad. Sci.* **18**, (2), 161 (1955).
13. J. R. FREY, *Dermatologica* **107**, 88 (1953).
14. J. R. FREY, *Dermatologica* **107**, 60 (1953).
15. O. BECK und H. LACY, *Texas Rep. Biol. Med.* **9**, 395 (1951).
16. S. S. BLOCK, *Agric. Food Chem.* **3**, 229 (1955).
17. C. L. MASON, *Phytopathology* **38**, 740 (1948).
18. K. A. OSTER und M. J. GOLDEN, *Exp. Med. Surg.* **1**, 37 (1949).
19. K. SIGG, *Schweiz. Med. Wochenschr.* **77**, 123 (1947).
20. A. ALBERT, *Med. J. Aust.* **1**, 245 (1944).
21. A. ALBERT, S. D. RUBBO, R. J. GOLDACRE und B. G. BALFOUR, *Brit. J. Exp. Path.* **28**, 69 (1947).
22. S. D. RUBBO, A. ALBERT und M. I. GIBSON, *Brit. J. Exp. Path.* **31**, 425 (1950).
23. A. ALBERT, M. I. GIBSON und S. D. RUBBO, *Brit. J. Exp. Path.* **34**, 119 (1953).
24. A. ALBERT, A. HAMPTON, F. R. SELBIE und R. D. SIMON, *Brit. J. Exp. Path.* **35**, 75 (1954).
25. E. JENEY, T. ZSOLNAI, Z. MELLES und P. JUHÁSZ, *Zbl. Bakt. I. Orig* **160**, 677 (1954).
26. E. JENEY, T. ZSOLNAI und Z. MELLES, *Zbl. Bakt. I. Orig* **161**, 465 (1954).
27. E. JENEY und T. ZSOLNAI, *Zbl. Bakt. I. Orig* **163**, 281 (1955).
28. E. JENEY und T. ZSOLNAI, *Zbl. Bakt. II. Orig* **110**, 634 (1957).
29. CARL und MARQUARDT, *Z. Naturf.* **4b**, 280 (1949).
30. M. VAJDA und T. NÓGRÁDI, *Experientia* **10**, 373 (1954).
31. E. SORKIN, W. ROTH und H. ERLENMEYER, *Experientia* **7**, 64, 257 (1951).
32. W. ROTH, E. SORKIN und H. ERLENMEYER, *Schweiz. Z. Allg. Path. Bakt.* **15**, 300 (1952).

33. T. URBANSKI, S. SLOPEK und J. VENULET, *Nature, Lond.* **168**, 29 (1951).
34. A. A. KNIGHT, D. W. TARUN und J. MILLER, *Amer. J. Trop. Med.* **29**, 871 (1949).
35. D. J. TAYLOR und J. GREENBERG, *Amer. J. Hyg.* **56**, 58 (1952).
36. M. M. GREEN, *J. Amer. Pharm. Ass.* **7**, 150 (1946).
37. J. H. ARNETT, *Amer. J. Med. Sci.* **213**, 608 (1947).
38. H. H. ANDERSON, N. A. DAVID und D. A. KOCH, *Proc. Soc. Exp. Biol., N. Y.* **28**, 484 (1931).
39. W. BALAMUTH, *Amer. J. Trop. Med.* **2**, 191 (1953).
40. T. C. MORTON, *Brit. Med. J.* **1**, 831 (1945).
41. W. R. JONES, *Brit. J. Pharmacol.* **2**, 217 (1947).
42. P. E. THOMPSON und B. L. LILLIGREN, *Amer. J. Trop. Med.* **29**, 323 (1949).
43. L. G. GOODWIN, C. A. HOARE und T. M. SHARP, *Brit. J. Pharmacol.* **3**, 44 (1948).
44. P. E. THOMPSON, J. W. REINERTSON, A. BAYLES, D. A. McCARTHY und E. F. ELSLAGER, *Amer. J. Trop. Med.* **4**, 224 (1955).
45. G. JOHNSON und R. E. TRUSSEL, *Proc. Soc. Exp. Biol., N. Y.* **54**, 245 (1943).
46. R. E. TRUSSEL und G. JOHNSON, *Amer. J. Obstet. Gynec.* **48**, 215 (1944).
47. G. A. ZENTMYER, *Science* **100**, 294 (1944).
48. T. URBANSKI, S. HORNUNG, S. SLOPEK und J. VENULET, *Nature, Lond.* **170**, 753 (1952).
49. A. GOTTH, *Science* **104**, 330 (1946).
50. F. BLANK, *Nature* **168**, 516 (1951).
51. H. J. CHINN, R. B. MITCHELL und A. C. ARNOLD, *J. Invest. Derm.* **20**, 177 (1953).