

VERSUCHE ZUR ENTDECKUNG NEUER FUNGISTATIKA—IX

AUF DIE ATMUNG UND GLUKOSE-FERMENTATION DER HEFE AUSGEÜBTE HEMMENDE WIRKUNG VON ARYL- AZO-METHYLEN-VERBINDUNGEN UND MIT IHNEN VERWANDTEN STOFFEN

TIBOR ZSOLNAI

Hygiene-Institut* der Medizinischen Universität in Debrecen, Ungarn

(Received 11 March 1964; accepted 2 May 1964)

Abstract—The inhibiting effect on the respiration and glucose fermentation of the fungus *Saccharomyces cerevisiae* by different aryl-azo- and arylidene-derivatives containing “active methylen- and methynyl-groups”, by aryl-azo-pyrazols obtained from them and by aryl-azo-nitro-methans and aryl-azo-dicyandiamins was studied. Of the aryl-azo-derivatives containing an active methylen- and methynyl-group only the aryl-azo-malononitrils inhibited the respiration and glucose-fermentation of yeast. This effect can be prevented or reduced by cystein and thioglycolate. The respiration of yeast is inhibited by 4-aryl-azo-3,5-dimethyl-pyrazols, 4-aryl-azo-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-amidin-hydrochlorides and the 4-aryl-azo-3-methyl-pyrazolyl(5)-yl-1-amidin-hydrochlorides, 4-aryl-azo-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-thiocarbonic-amids is not prevented by SH compounds.

IM TEIL VII und VIII dieser Mitteilungsserie^{1,2} wurden die antimikrobiellen und ascariziden Wirkungen der Aryl-azo-Derivate von “aktive Methylen- und Methynyl-Gruppe” enthaltenden Verbindungen, der daraus gewonnenen Aryl-azo-pyrazole und Aryl-azo-pyrazolone, der Arylidene-Derivate von “aktive Methylen-Gruppe” enthaltenden Verbindungen, sowie der Ausgangs- und Verwandtenstoffe all dieser Verbindungstypen, ausserdem einiger Bakteriostatika und Fungistatika, die zum Vergleich untersucht wurden, behandelt. Da wir einige dieser Verbindungen (namentlich die verschiedenen Aryl-azo-malonitrile) biologisch in sehr bedeutendem Masse wirksam gefunden und von ihnen festgestellt haben, dass ihre bakteriostatische und fungistatische Wirkung sowohl durch das Cystein, wie auch durch das Thioglycolat aufgehoben (oder mindestens erheblich vermindert) wird, d.h. diese Verbindungen üben ihre biologische Wirkungen durch sog. “Sulphydryl-Inhibition” aus, hielten wir es notwendig, unsere Untersuchungen auch auf andere biologische, bzw. biochemische Systeme zu erstrecken, um zu entscheiden, ob sie auch gewisse gut messbare Zellenzymtätigkeiten hemmen können, und wenn ja, in welchem Masse, wie weit spezifisch, und ob auch diese Wirkungen durch Cystein oder Thioglycolat sich beeinflussen lassen. Zu diesem Zweck haben wir die Atmung und Glycolyse der *Saccharomyces cerevisiae* gewählt.

* Vorstand. Universitäts professor Dr. med. Endre Jeney

UNTERSUCHUNGSMETHODE

Die Hemmbarkeit der Atmung der *Saccharomyces cerevisiae* durch die Verbindungen, die wir im VII und VIII Teil unserer Mitteilungsserie bekannt gemacht haben, haben wir mittels der Wartburg-Methode untersucht, wobei das Volumen des verbrauchten Sauerstoffs manometrisch gemessen wurde. Als Substrat haben wir die Glukose in Phosphat-Puffer von einer Konz. M/20 und pH = 7,2 angewandt. Als Testorganismus haben wir 50 mg (auf nassen Zustand bezogen!) von 72 stündiger Zucht der *Saccharomyces cerevisiae* je Wartburg-Gefäß gebraucht, die vorher mit Phosphat-Puffer von pH = 7,2 und Konz. M/20 mehrmals durchgewaschen wurde. Das Gesamtvolumen der Flüssigkeit betrug 2,0 ml. Das Kohlendioxyd, das während der Atmung entstand, wurde durch 20% Kalium-hydroxyd-Lösung aufgefangen. Der Versuch wurde bei 37° Temperatur vorgenommen und 1,5 Stunden lang ausgeführt.

Um entscheiden zu können, ob einige Verbindungen, die anhand unserer Versuche die Atmung der Hefe hemmten, ihre Wirkung nicht dadurch ausgeübt haben, dass dieselben in der angewandten Konz. auf die *Saccharomyces cerevisiae* fungizid wirksam waren, haben wir nach Abschluss des Versuchs 0,05 ml aus jedem Warburg-Gefäß in 5 ml flüssigen Maisch-Nährboden übertragen und nach 3-tägiger Inkubation bei 28° ausgewertet, ob eine Entwicklung der Hefe im Nährboden zu beobachten wäre.

Die Wirkung unserer Verbindungen auf die Glukose-Fermentation der *Saccharomyces cerevisiae* haben wir in einem *van Ittersson-Kluyverschem* Fermentor untersucht; das Volumen des während der Zeiteinheit bildendem Kohlendioxyds wurde manometrisch gemessen. Als Substrat wurde Glukose in einem Phosphat-Puffer von pH = 6,0 und Konz. M/20, als Testorganismus 50 mg Menge (auf nassen Zustand bezogen!) der 72 stündigen Zucht der *Saccharomyces cerevisiae* gebraucht, die vorher mit Phosphat-Puffer von pH = 6,0 und Konz. M/20 mehrmals gut durchgewaschen wurde. Das Gesamtvolumen betrug 3,0 ml, die Temperatur war 22°; ein Versuch dauerte 18 Stunden.

Die höchste untersuchte molare Konzentration einer jeden Verbindungen betrug M/1000 sowohl bei der Untersuchung der Wirkung auf die Atmung der Hefe, wie auch für auf die Glukose-Fermentation hin. Die Möglichkeit der Abwehrung, bzw. Verminderung der atmung- und fermentationshemmenden Wirkungen der Verbindungen durch Cystein und Thioglycolat haben wir auf gleiche Weise untersucht, wie ihre Wirkung auf die Atmung, bzw. Glukose-Fermentation jedoch mit dem Unterschied, dass um 0,2 bzw. 0,3 ml weniger Phosphat-Puffer zu unseren Versuchen angewandt wurde; anstatt dieser wurden die mit Natronlauge neutralisierten wässrigen Lösungen des Cystein-hydrochlorids, bzw. der Thioglycolsäure von einer Konz. M/10 zu den Systemen gegeben, wodurch diese in dem Systeme in jedem Fall in der Konz. M/100, die untersuchten Verbindungen aber in ihrer angewandten höchsten molaren Konzentration, also in M/1000 anwesend waren. Demgemäß war das Mol-Verhältnis zwischen dem Cystein, bzw. Thioglycolat und der Verbindung anhand der Abwehrungsuntersuchungen 1:10.

Im Laufe unserer Untersuchungen haben wir je 3 Parallele aus allen Konzentrationen jeder Verbindung und auch je 3 verbindunglose Kontrolle angewandt; die sämtlichen Untersuchungsserien wurden 3-4-mal wiederholt. Die Ergebnisse der einzelnen Parallelen innerhalb einer Untersuchungsserie, sowohl jene der in anderen Zeitpunkten

durchgeföhrten, sonst identischen Untersuchungsserien zeigten nur eine Streuung von $\pm 10-15\%$ auf, die einer guten qualitativen Übereinstimmung der Ergebnissen entspricht.

Der zur Auflösung der Verbindungen angewandte Alkohol, sowie die Natronlauge, bzw. Salzsäure übten—nach dem Beweis der Kontrolle—in der gebrauchten Menge einen Einfluss weder auf die Atmung, noch auf die Glukose-Fermentation der Hefe aus. Die Atmung und Glukose-Fermentation der Hefe wurde weder durch das Cystein, noch durch das Thioglycolat in der Konzentration von M/100 beeinflusst.

ERGEBNISSE

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen wurden in der Tabelle 1, 2 und 3 zusammengefasst.

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Aus den in den Tabellen zusammengefassten Ergebnissen kann man Folgendes feststellen:

1. Die Mehrheit der Aryl-azo-malonitrile übt eine hemmende Wirkung auf die Atmung und Glukose-Fermentation der Hefe aus. Die atmungshemmende und fermentationshemmende Wirkung der meisten Aryl-azo-malonitrile werden sowohl durch das Cystein, wie auch durch das Thioglycolat abgewehrt; diese Wirkungen einiger von ihnen kann das Cystein und Thioglycolat nicht völlig abwehren, nur bedeutend vermindern. Daraus kann man darauf folgern, dass die Aryl-azo-malonitrile die Atmung und Glukose-Fermentation der Hefe auf Grund eines ähnlichen Mechanismus hemmen, wie die Entwicklung der Mikroorganismen, d.h. durch die Inaktivierung der Sulfhydryl-Enzyme.

2. Die Aryl-azo-malonitrile, die in ihren Molekülen polare $-\text{COOH}$, $-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}_3$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{HN}-\text{R}$ Substituenten enthalten, hemmen weder die Atmung, noch die Fermentation der Hefe, vermutlich aus dem Grunde, weil sie in die Hefezellen nicht eindringen können. (Das stimmt mit unserer Beobachtung überein, dass diese Verbindungen über keine antimikrobielle und ascarizide Wirkung verfügen.¹⁾ Das lässt, darauf folgern, dass die Aryl-azo-malonitrile, die auf die Atmung und Glukose-Fermentation der Hefe hemmend wirken, diese hemmende Wirkung intracellular ausüben.

3. Die Aryl-azo-Derivate der Cyanessigsäure-ester, Cyanessigsäure-anilide, des Cyanessigsäureamids, Cyanessigsäure-hydrazids, Acetyl-acetons und Malonsäure-diaethyl-esters können weder die Atmung noch die Glukose-Fermentation der Hefe hemmen. Die Aryl-azo-acetessigester wirken mässig hemmend auf die Atmung der Hefe, demgegenüber beeinflussen sie ihre glukose-fermentierende Fähigkeit nicht.

4. Die überwiegende Mehrheit der Aryl-azo-Derivate der Alkyl- und Aralkyl-malonitrile vermag die Atmung der Hefe mehr oder weniger zu hemmen, aber auf ihre Glukose-Fermentation bleiben sie—with Ausnahme der F/2283 und 2284—wirkungslos. Die atmungshemmende Wirkung der Aryl-azo-Derivate der Alkyl- und Aralkyl-malonitrile wird durch das Cystein völlig abgewehrt. Diese Wirkung der Verbindungen F/2279, 2280, 2287, 2294, 2295, 2296 und 2302 wird durch das Na-Thioglycolat etwas vermindert, diejenige ihrer Mehrheit wird aber dadurch überhaupt nicht beeinflusst. Die 2- und 3-Chlor-phenyl-azo-Derivate des Methyl-malonitrils (F/2283 und 2284) hemmen mässig die Glukose-Fermentation der Hefe (die übrigen Aryl-azo-alkyl- und

TABELLE 1. DER EINFLUSS DER UNTERSUCHTEN VERBINDUNGEN AUF DIE ATMUNG UND GLUKOSE-FERMENTATION DER *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*.

Nr.	Verbindungen	Atmungshemmende Wirkung in Verbindungskonzentration von M/1000 M/2,500 M/5,000			Fermentationshemmende Wirkung in Verbindungskonzentration von M/1,000 M/2,500 M/5,000 M/10,000		
		Aryl-azo-malonitrile		Aryl-phenyl-azo-malonitrile			
F/2201	Phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2202	2-Tolyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2203	3-Tolyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2204	4-Tolyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2205	2-Chlor-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2206	3-Chlor-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2207	4-Chlor-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2208	4-Brom-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2209	4-Jod-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2210	4-Aethoxy-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2211	2-Methyl-4-brom-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2212	2-Methyl-4-jod-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2213	3-Methyl-4-brom-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2214	4-Methyl-2-bromo-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2215	2-Brom-4-aethoxy-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2216	2,5-Dichlor-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2217	3,5-Dibromo-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2218	2-Chlor-4-brom-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2219	3-Chlor-4-brom-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2220	2-Methyl-4,6-dibromo-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2221	2-Chlor-4,6-dibromo-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2222	3-Chlor-4,6-dibromo-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2223	4-Chlor-2,6-dibromo-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2224	2,4,6-Tribromo-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2225	2-Nitro-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2226	3-Nitro-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2227	4-Nitro-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2228	2-Methyl-4-nitro-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2229	3-Methyl-4-nitro-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2230	4-Methyl-2-nitro-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2231	2-Nitro-4-aethoxy-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2232	2-Chlor-4-nitro-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2233	3-Chlor-4-nitro-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2234	4-Chlor-2-nitro-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+	+	+
F/2238	Phenyl-azo-malonitril-4-karbonsäure-aethyl-ester	+	+	+	+	+	+

TABELLE 1—*fortges.*

Nr.	Verbindungen	Atmungshemmende Wirkung von			Fermentationshemmende Wirkung in			
		M/1,000	M/2,500	M/5,000	M/10,000	M/1,000	M/2,500	M/5,000
<i>Aryl-azo-Derivate des Acetessigesters</i>								
F/2243	1-Naphthyl-azo-malonitril	++	++	++	+	++	++	++
F/2244	4-Bromo-1-naphthyl-azo-malonitril	++	++	++	+	++	++	++
F/2245	Azobenzol-4-azo-malonitril	++	++	++	+	++	++	++
F/2246	Diphenylen-4,4'-bis-(azo-malonitril)	++	++	++	+	++	++	++
F/2247	3,3'-Dimethyl-diphenylen-4,4'-bis-(azo-malonitril)	++	++	++	+	++	++	++
<i>Aryl-azo-Derivate von Alkyl- und Aralkyl-malonitrilen</i>								
F/2271	Phenyl-azo-methyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2272	2-Tolyl-azo-methyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2273	3-Tolyl-azo-methyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2274	4-Tolyl-azo-methyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2275	3-Chlor-phenyl-azo-acetessigester	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2275	4-Chlor-phenyl-azo-acetessigester	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2279	Phenyl-azo-methyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2280	2-Tolyl-azo-methyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2281	3-Tolyl-azo-methyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2282	4-Tolyl-azo-methyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2283	2-Chlor-phenyl-azo-methyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2284	3-Chlor-phenyl-azo-methyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2285	4-Chlor-phenyl-azo-methyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2286	4-Aethoxy-phenyl-azo-methyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2287	Phenyl-azo-ethyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2288	2-Tolyl-azo-ethyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2289	3-Tolyl-azo-ethyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2290	4-Tolyl-azo-ethyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2291	2-Chlor-phenyl-azo-ethyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2292	3-Chlor-phenyl-azo-ethyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2293	4-Chlor-phenyl-azo-ethyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2294	4-Aethoxy-phenyl-azo-ethyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2295	Phenyl-azo-benzyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2296	2-Tolyl-azo-benzyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2297	3-Tolyl-azo-benzyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2298	4-Tolyl-azo-benzyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2299	2-Chlor-phenyl-azo-benzyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2300	3-Chlor-phenyl-azo-benzyl-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
F/2302	Phenyl-azo-(4-chlor-benzyl)-malonitril	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++

TABELLE 1.—fortges.

Nr.	Verbindungen	Atemungshemmende Wirkung			Fermentationshemmende Wirkung in Verbindungsconzentration von M/1,000 M/2,500 M/5,000 M/10,000 M/2,500 M/5,000 M/10,000
		M/1,000	M/2,500	M/5,000	
F/2303	3-Tolyl-azo-(4'-chlor-benzyl)-malonitril	+	—	—	—
F/2304	4-Tolyl-azo-(4'-chlor-benzyl)-malonitril	+	—	—	—
	<i>Mit Hydrazin gebildete Derivate von Aryl-azo-methylen-Gruppe enthaltenden Verbindungen</i>				
F/2335	4-(<i>4</i> '-Phenyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazol	+	—	—	—
F/2336	4-(<i>4</i> '-Tolyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazol	+	—	—	—
F/2337	4-(<i>4</i> '-Chlor-phenyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazol	+	—	—	—
	<i>Mit Aminoguanidin-hydrochlorid gebildete Kondensationsprodukte von Aryl-azo-acetylacetonen und Aryl-azo-acetessigestern</i>				
F/2330	4-(<i>4</i> '-Acetyl-phenyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-amidin-aminoguanidin hydrochlorid	+	+	+	+
F/2331	4-(<i>4</i> '-Acetyl-phenyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazolyl(5-yl)-1-amidin-aminoguanidin hydrochlorid	+	+	+	+
F/2344	4-Phenyl-azo-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-amidin-hydrochlorid	+	+	+	—
F/2345	4-(<i>3</i> '-Tolyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-amidin-hydrochlorid	+	+	+	—
F/2346	4-(<i>4</i> '-Tolyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-amidin-hydrochlorid	+	+	+	—
F/2347	4-(<i>3</i> '-Chlor-phenyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-amidin hydrochlorid	+	+	+	+
F/2348	4-(<i>4</i> '-Chlor-phenyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-amidin hydrochlorid	+	+	+	—
F/2349	4-Phenyl-azo-3-methyl-pyrazolyl(5-yl)-1-amidin-hydrochlorid	+	—	—	—
F/2350	4-(<i>3</i> '-Tolyl-azo)-3-methyl-pyrazolyl(5-yl)-1-amidin hydrochlorid	+	+	+	—
F/2351	4-(<i>4</i> '-Tolyl-azo)-3-methyl-pyrazolyl(5-yl)-1-amidin hydrochlorid	+	—	—	—
F/2352	4-(<i>3</i> '-Chlor-phenyl-azo)-3-methyl-pyrazolyl(5-yl)-1-amidin hydrochlorid	+	+	+	—
F/2353	4-(<i>4</i> '-Chlor-phenyl-azo)-3-methyl-pyrazolyl(5-yl)-1-amidin hydrochlorid	+	+	+	+

TABELLE I—*fortges.*

Nr.	Verbindungen	Arimungshemmende Wirkung in Verbindungs Konzentration von			Fermentationshemmende Wirkung in Verbindungs Konzentration von			
		M/1,000	M/2,500	M/5,000	M/10,000	M/1,000	M/2,500	M/5,000
<i>Mit Thiourethan-carbonyl gebildete Konzentrations- produktie von Aryl-azo-o-acetylacetionen</i>								
F/2354	4-Phenyl-azo-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-thiocarbon- säureamid	+	—	—	—	—	—	—
F/2355	4-(3'-Tolyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-thiocar- bonsäureamid	+	—	—	—	—	—	—
F/2356	4-(4'-Tolyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-thiocar- bonsäureamid	+	—	—	—	—	—	—
F/2357	4-(3'-Chlor-phenyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1- thiocarbon-säureamid	+	—	—	—	—	—	—
F/2358	4-(4'-Chlor-phenyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1- thiocarbon-säureamid	+	—	—	—	—	—	—
<i>Verschiedene andere Azo-Verbindungen</i>								
F/2361	Phenyl-azo-dicyandiamin	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
F/2362	2-Tolyl-azo-dicyandiamin	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
F/2363	3-Tolyl-azo-dicyandiamin	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
F/2368	2-Aethoxy-phenyl-azo-dicyandiamin	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Arylidene-Derivate von "aktive Methylen-Gruppe" enthaltenden Verbindungen</i>								
F/2370	Benzal-malonitril	—	—	—	—	—	—	—
F/2371	4-Chlor-benzal-malonitril	+	+	+	+	+	+	+
F/2374	4-Dimethylamino-benzal-malonitril	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
F/2375	Furfural-malonitril	—	—	—	—	—	—	—
F/2376	Phenaethylidene-malonitril	—	—	—	—	—	—	—
F/2377	2-Naphyl-acetyliden-malonitril	—	—	—	—	—	—	—
F/2378	Benzal-cyanessigsäure-methyl-ester	—	—	—	—	—	—	—
F/2380	4-Dimethylamino-benzal-cyanessigsäure-methyl- ester	—	—	—	—	—	—	—
F/2381	Furfural-cyanessigsäure-methyl-ester	—	—	—	—	—	—	—
F/2382	Benzal-cyanacetamid	—	—	—	—	—	—	—
F/2383	2-Hydroxy-benzal-cyanacetamid	—	—	—	—	—	—	—
F/2384	4-Hydroxy-benzal-cyanacetamid	—	—	—	—	—	—	—
F/2385	4-Dimethylamino-benzal-cyanacetamid	—	—	—	—	—	—	—

TABELLE 1—*fortges.*

Nr.	Verbindungen	Atmungshemmende Wirkung in Verbindungs Konzentration von			Fermentationshemmende Wirkung in Verbindungs Konzentration von			
		M/1,000	M/2,500	M/5,000	M/10,000	M/1,000	M/2,504	M/5,000
<i>Halogen-substituierte Malonitrile</i>								
F/2397	Aethyl-brom-malonitril	+	+	+	+	+	+	+
F/2398	Benzyl-brom-malonitril	+	+	+	+	+	+	+
F/2398	4-Chlor-benzyl-brom-malonitril	+	+	+	+	+	+	+
<i>Zum Vergleich untersuchte Verbindungen</i>								
5-Nitro-furfurol-semicarbazone (= Furazin)		—	—	—	—	—	—	—
3-(5'-Nitro-furfural-amino)-oxazolidon-(2) (= Fur-		—	—	—	—	—	—	—
oxon)		—	—	—	—	—	—	—
1-Phenyl-2-nitro-propylen-(1,2)		+	+	+	+	+	+	+
1-(4'-Chlor-phenyl)-2-nitro-propylen-(1,2)		+	+	+	+	+	+	+
4-Nitro-chinolin-1-oxyd		+	+	+	+	+	+	+
4-Nitro-6-methyl-chinolin-1-oxyd		+	+	+	+	+	+	+
2-Methyl-1,4-naphthochinon		+	+	+	+	+	+	+
4-Chlor-benzyl-thiocyanat		+	+	+	+	+	+	+
1-Phenyl-3,5-dimethyl-4-nitro-pyrazol		+	+	+	+	+	+	+

Zeichenerklärung: + + = 95-100% Atmungshemmung bzw. Fermentationshemmung
++ = 80-94% Atmungshemmung bzw. Fermentationshemmung

± = 50-79% Atmungshemmung bzw. Fermentationshemmung
— = die Atmungshemmung bzw. Fermentationshemmung ist weniger als 50%.

TABELLE 2. VERBINDUNGEN, WELCHE SO DIE ATMUNG, WIE DIE GLUKOSE-FERMENTATION DER *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* AUCH IN DER ANGEWANDTEN HÖCHSTEN MOLAREN KONZENTRATION, D.H. IN M/1000, NUR WENIGER ALS 50% (ALSO IN NENNENSWERTEM GRADE NICHT) HEMMEN

Nr.	Verbindungen
F/2235	4-Acetylamino-phenyl-azo-malonitril
F/2236	Phenyl-azo-malonitril-2-karbonsäure
F/2237	Phenyl-azo-malonitril-4-karbonsäure
F/2239	3-Hydroxy-phenyl-azo-malonitril-4-karbonsäure
F/2240	Phenyl-azo-malonitril-4-sulfonsäure
F/2241	Phenyl-azo-malonitril-4-sulfonamid
F/2242	Phenyl-azo-malonitril-4-N-(4',6'-dimethyl-2'-pyrimidyl)-sulfonamid
F/2248	Phenyl-azo-cyanessigsäure-methyl-ester
F/2249	4-Tolyl-azo-cyanessigsäure-methyl-ester
F/2250	4-Chlor-phenyl-azo-cyanessigsäure-methyl-ester
F/2251	Phenyl-azo-cyanessigsäure-aethyl-ester
F/2252	4-Tolyl-azo-cyanessigsäure-aethyl-ester
F/2253	4-Chlor-phenyl-azo-cyanessigsäure-aethyl-ester
F/2254	Phenyl-azo-cyanacetamid
F/2255	4-Tolyl-azo-cyanacetamid
F/2256	4-Chlor-phenyl-azo-cyanacetamid
F/2257	Phenyl-azo-cyanessigsäure-anilid
F/2258	4-Tolyl-azo-cyanessigsäure-anilid
F/2259	4-Chlor-phenyl-azo-cyanessigsäure-anilid
F/2260	Phenyl-azo-cyanessigsäure-(4'-chlor-anilid)
F/2261	4-Tolyl-azo-cyanessigsäure-(4'-chlor-anilid)
F/2262	4-Chlor-phenyl-azo-cyanessigsäure-(4'-chlor-anilid)
F/2263	Phenyl-azo-cyanessigsäure-hydrazid
F/2264	4-Tolyl-azo-cyanessigsäure-hydrazid
F/2265	4-Chlor-phenyl-azo-cyanessigsäure-hydrazid
F/2266	Phenyl-azo-acetylaceton
F/2267	3-Tolyl-azo-acetylaceton
F/2268	4-Tolyl-azo-acetylaceton
F/2269	3-Chlor-phenyl-azo-acetylaceton
F/2270	4-Chlor-phenyl-azo-acetylaceton
F/2276	Phenyl-azo-malonsäure-diaethyl-ester
F/2277	4-Tolyl-azo-malonsäure-diaethyl-ester
F/2278	4-Chlor-phenyl-azo-malonsäure-diaethyl-ester
F/2301	4-Chlor-phenyl-azo-benzyl-malonitril
F/2305	2-Chlor-phenyl-azo-(4'-chlor-benzyl)-malonitril
F/2306	3-Chlor-phenyl-azo-(4'-chlor-benzyl)-malonitril
F/2307	4-Chlor-phenyl-azo-(4'-chlor-benzyl)-malonitril
F/2308	Phenyl-azo-benzoyl-aceton
F/2309	3-Tolyl-azo-benzoyl-aceton
F/2310	4-Tolyl-azo-benzoyl-aceton
F/2311	3-Chlor-phenyl-azo-benzoyl-aceton
F/2312	4-Chlor-phenyl-azo-benzoyl-aceton
F/2313	4-Acetyl-phenyl-azo-malonitril
F/2314	4-Acetyl-phenyl-azo-cyanessigsäure-methyl-ester
F/2315	4-Acetyl-phenyl-azo-cyanacetamid
F/2316	4-Acetyl-phenyl-azo-acetylaceton
F/2317	4-Acetyl-phenyl-azo-acetessigester
F/2318	4-Acetyl-phenyl-azo-malonitril-semicarbazone
F/2319	4-Acetyl-phenyl-azo-malonitril-thiosemicarbazone
F/2320	4-Acetyl-phenyl-azo-malonitril-aminoguanidon hydrochlorid
F/2321	4-Acetyl-phenyl-azo-malonitril-oxym
F/2322	4-Acetyl-phenyl-azo-malonitril-phenyl-hydrazon
F/2323	4-Acetyl-phenyl-azo-malonitril-salizyloyl-hydrazon
F/2324	4-Acetyl-phenyl-azo-malonitril-isonikotinoyl-hydrazon
F/2325	4-Acetyl-phenyl-azo-malonitril-azin
F/2326	4-Acetyl-phenyl-azo-cyanessigsäure-methyl-ester-semicarbazone
F/2327	4-Acetyl-phenyl-azo-cyanessigsäure-methyl-ester-thiosemicarbazone

TABELLE 2—*fortges.*

Nr.	Verbindungen
F/2328	4-Acetyl-phenyl-azo-cyanessigsäure-methyl-ester-aminoguanidon hydrochlorid
F/2329	4-(4'-Acetyl-phenyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazolyl-l-thiocarbonsäureamid-thiosemicarbazone
F/2332	4-Phenyl-azo-3,5-diamino-pyrazol
F/2333	4-(4'-Tolyl-azo)-3,5-diamino-pyrazol
F/2334	4-(4'-Chlor-phenyl-azo)-3,5-diamino-pyrazol
F/2338	4-Phenyl-azo-3-amino-pyrazolone-(5)
F/2339	4-(4'-Tolyl-azo)-3-amino-pyrazolone-(5)
F/2340	4-(4'-Chlor-phenyl-azo)-3-amino-pyrazolone-(5)
F/2341	4-Phenyl-azo-3-methyl-pyrazolone-(5)
F/2342	4-(4'-Tolyl-azo)-3-methyl-pyrazolone-(5)
F/2343	4-(4'-Chlor-phenyl-azo)-3-methyl-pyrazolone-(5)
F/2359	4-Tolyl-azo-nitromethan (= Nitro-formaldehyd-4-tolyl-hydrazone)
F/2360	4-Chlor-phenyl-azo-nitromethan (= Nitro-formaldehyd-4-chlor-phenyl-hydrazone)
F/2364	4-Tolyl-azo-dicyandiamin
F/2365	2-Chlor-phenyl-azo-dicyandiamin
F/2366	3-Chlor-phenyl-azo-dicyandiamin
F/2367	4-Chlor-phenyl-azo-dicyandiamin
F/2369	4-Aethoxy-phenyl-azo-dicyandiamin
F/2372	4-Hydroxy-benzal-malonitril
F/2373	3-Methoxy-4-hydroxy-benzal-malonitril
F/2379	4-Hydroxy-benzal-cyanessigsäure-methyl-ester
F/2386	Furfural-cyanacetamid
F/2387	Benzal-(benzyl-cyanid)
F/2388	4-Chlor-benzal-(benzyl-cyanid)
F/2389	Benzal-(4'-chlor-benzyl-cyanid)
F/2390	4-Chlor-benzal-(4'-chlor-benzyl-cyanid)
F/2391	Benzyl-(4'-nitro-benzyl-cyanid)
F/2392	4-Chlor-benzal-(4'-nitro-benzyl-cyanid)
F/2393	1-Acetyl-2-methyl-3,3-dicyano-propylen-(2,3)
F/2394	1,1,6,6-Tetracyano-2,5-dimethyl-hexadien-(1,5)
F/2395	1,1,3,3-Tetracyano-propan
F/2396	1,1,3,3-Tetracyano-2-(2'-hydroxy-phenyl)-propan
F/2400	Phenyl-brom-malonitril
<i>Ausgangsstoffe</i>	
	Malonitril
	Methyl-malonitril
	Aethyl-malonitril
	Benzyl-malonitril
	4-Chlor-benzyl-malonitril
	Phenyl-malonitril
	Cyanessigsäure-methyl-ester
	Cyanessigsäure-aethyl-ester
	Cyanacetamid
	Cyanessigsäure-anilid
	Cyanessigsäure-(4-chlor-anilid)
	Cyanessigsäure-hydrazid
	Cyanoform-natrium
	Acetonitril
	Benzyl-cyanid
	4-Chlor-benzyl-cyanid
	4-Nitro-benzyl-cyanid
	Kalium-cyanid
	Acetyl-aceton
	Benzoyl-aceton
	Acetessigester
	Malonsäure-diaethyl-ester
	Natrium-cyanid
	Dicyandiamin
	4-Chlor-phenyl-dicyandiamin
	Nitromethan
	3,5-Dimethyl-pyrazol
	3-Methyl-pyrazolone-(5)

TABELLE 3. DIE BEINFLUSSBARKEIT DER ATMUNGSHEMMENDEN UND FERMENTATIONSHEMMENDEN WIRKUNG DER UNTERSUCHTEN VERBINDUNGEN DURCH CYSTEIN-HYDROCHLORID UND NA-THIOPROPOLAT.
(TEST-ORGANISMUS: SACCHAROMYCES CEREVISIAE—ANGEWANDTE VERBINDUNGSKONZENTRATION: M/1000)

Nr.	Verbindungen	Atmungshemmende Wirkung		Fermentationshemmende Wirkung	
		Ohne Zufügungen in der Konz. M/100	In Gegenwart von Cystein- hydrochlorid in der Konz. in der Konz. M/100	Ohne Zufügungen in der Konz. M/100	In Gegenwart von Na- thioglycolat in der Konz. in der Konz. M/100
<i>Aryl-azo-malonitrile</i>					
F/2201	Phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2202	2-Tolyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2203	3-Tolyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2204	4-Tolyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2205	2-Chlor-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2206	3-Chlor-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2207	4-Chlor-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2208	4-Bromo-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2209	4-Iod-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2210	4-Aethoxy-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2211	2-Methyl-4-bromo-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2212	2-Methyl-4-jod-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2213	3-Methyl-4-bromo-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2214	4-Methyl-2-bromo-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2215	2-Bromo-4-ethoxy-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2216	2,5-Dichlor-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2217	3,5-Dibrom-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2218	2-Chlor-4-bromo-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2219	3-Chlor-4-bromo-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2220	2-Methyl-4,6-dibromo-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2221	2-Chlor-4,6-dibromo-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2222	3-Chlor-4,6-dibromo-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2223	4-Chlor-2,6-dibromo-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2224	2,4,6-Tribromo-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2225	2-Nitro-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2226	3-Nitro-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2227	4-Nitro-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+
F/2228	2-Methyl-4-nitro-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	+

TABELLE 3—fortges

Nr.	Verbindungen	Atmungshemmende Wirkung			Fermentationshemmende Wirkung
		In Gegenwart von Cystin- hydrochlorid in der Konz. M/100	In Gegenwart von Na- thioglycolat in der Konz. M/100	Ohne Zufügungen	
F/2229	3Methyl-4-nitro-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	—
F/2230	4-Methyl-2-nitro-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	—
F/2231	2-Nitro-4-aethoxy-phenyl-azo-malonitril	+	+	+	—
F/2232	2-Chlor-4-nitro-phenyl-azo-malonitril	—	—	—	—
F/2233	3-Chlor-4-nitro-phenyl-azo-malonitril	—	—	—	—
F/2234	4-Chlor-2-nitro-phenyl-azo-malonitril	—	—	—	—
F/2238	Phenyl-azo-malonitril-4-karbonsäure-ethyl-ester	—	—	—	—
F/2243	1-Naphthyl-azo-malonitril	—	—	—	—
F/2244	4-Brom-1-naphthyl-azo-malonitril	—	—	—	—
F/2245	Azobenzol-4-azo-malonitril	—	—	—	—
F/2246	Diphenylen-4,4'-bis-(azo-malonitril)	—	—	—	—
F/2247	3,3'-Dimethyl-diphenylen-4,4'-bis-(azo-malonitril)	—	—	—	—
<i>Aryl-azo-Derivate des Acetessigesters</i>					
F/2271	Phenyl-azo-acetessigester	+	+	+	—
F/2272	3-Tolyl-azo-acetessigester	+	+	+	—
F/2273	4-Tolyl-azo-acetessigester	+	+	+	—
F/2274	3-Chlor-phenyl-azo-acetessigester	+	+	+	—
F/2275	4-Chlor-phenyl-azo-acetessigester	+	+	+	—
<i>Aryl-azo-Derivate von Alkyl und Aralkyl-malonitrilen</i>					
F/2279	Phenyl-azo-methyl-malonitril	—	—	—	—
F/2280	2-Tolyl-azo-methyl-malonitril	—	—	—	—
F/2281	3-Tolyl-azo-methyl-malonitril	—	—	—	—
F/2282	4-Tolyl-azo-methyl-malonitril	—	—	—	—
F/2283	2-Chlor-phenyl-azo-methyl-malonitril	—	—	—	—
F/2284	3-Chlor-phenyl-azo-methyl-malonitril	—	—	—	—
F/2285	4-Chlor-phenyl-azo-methyl-malonitril	—	—	—	—
F/2286	Phenyl-azo-ethyl-malonitril	—	—	—	—
F/2287	2-Tolyl-azo-ethyl-malonitril	—	—	—	—
F/2288	3-Tolyl-azo-ethyl-malonitril	—	—	—	—

TABELLE 3—fortges.

Nr.	Verbindungen	Atmungshemmende Wirkung			Fermentationshemmende Wirkung
		Ohne Zufügungen	In Gegenwart von Cystein- hydrochlorid in der Konz. M/100	Ohne Zufügungen von Na- thioglycolat in der Konz. M/100	
F/2290	4-Tolyl-azo-ethyl-malonitril	++	++	++	++
F/2291	2-Chlor-phenyl-azo-ethyl-malonitril	+++	+++	+++	+++
F/2292	3-Chlor-phenyl-azo-ethyl-malonitril	+++	+++	+++	+++
F/2293	4-Chlor-phenyl-azo-ethyl-malonitril	+++	+++	+++	+++
F/2294	4-Aethoxy-phenyl-azo-ethyl-malonitril	+++	+++	+++	+++
F/2295	Phenyl-azo-benzyl-malonitril	+++	+++	+++	+++
F/2296	2-Tolyl-azo-benzyl-malonitril	+++	+++	+++	+++
F/2297	3-Tolyl-azo-benzyl-malonitril	+++	+++	+++	+++
F/2298	4-Tolyl-azo-benzyl-malonitril	+++	+++	+++	+++
F/2299	2-Chlor-phenyl-azo-benzyl-malonitril	+++	+++	+++	+++
F/2300	3-Chlor-phenyl-azo-benzyl-malonitril	+++	+++	+++	+++
F/2302	Phenyl-azo-(4'-chlor-benzyl)-malonitril	+++	+++	+++	+++
F/2303	3-Tolyl-azo-(4'-chlor-benzyl)-malonitril	+++	+++	+++	+++
F/2304	4-Tolyl-azo-(4'-chlor-benzyl)-malonitril	+++	+++	+++	+++
<i>Mit Hydrazin gebildete Derivate von Aryl-azo-methylen-Gruppe enthaltenden Verbindungen</i>					
F/2335	4-Phenyl-azo-3,5-dimethyl-pyrazol	+++	+++	+++	+++
F/2336	4-(4'-Tolyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazol	+++	+++	+++	+++
F/2337	4-(4'-Chlor-phenyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazol	+++	+++	+++	+++
<i>Mit Aminoguanidin-hydrochlorid gebildete Kondensationsprodukte von Aryl-azo-acetylacetonen und Aryl-azo-acetessigern</i>					
F/2330	4-(4'-Acetyl-phenyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-amidin-aminoguanidin-dihydrochlorid	++	++	++	++
F/2331	4-(4'-Acetyl-phenyl-azo)-3-methyl-pyrazolyl(5)-yl-1-amidin-aminoguanidin-dihydrochlorid	++	++	++	++
F/2344	4-Phenyl-azo-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-amidin hydrochlorid	++	++	++	++
F/2345	4-(3'-Tolyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-amidin hydrochlorid	++	++	++	++
F/2346	4-(4'-Tolyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-amidin hydrochlorid	++	++	++	++
F/2347	4-(3'-Chlor-phenyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-amidin hydrochlorid	++	++	++	++

TABLE 3—*fortges.*

Nr.	Verbindungen	Atmungshemmende Wirkung		Fermentationshemmende Wirkung
		In Gegenwart von Cystein-Zufügungen in der Konz. M/100	Ohne Zufügungen hydrochlorid in der Konz. in der Konz. M/100	
F/2348	4-(4'-Chlor-phenyl-azo)-3,5-dimethyl-1-pyrazolyl-1-amidin hydrochlorid	++	++	++
F/2349	4-Phenyl-azo-3-methyl-pyrazolyl(5)-yl-1-amidin hydrochlorid	++	++	++
F/2350	4-(3'-Tolyl-azo)-3-methyl-pyrazolyl(5)-yl-1-amidin hydrochlorid	++	++	++
F/2351	4-(4'-Tolyl-azo)-3-methyl-pyrazolyl(5)-yl-1-amidin hydrochlorid	++	++	++
F/2352	4-(3'-Chlor-phenyl-azo)-3-methyl-pyrazolyl(5)-yl-1-amidin hydrochlorid	++	++	++
F/2353	4-(4'-Chlor-phenyl-azo)-3-methyl-pyrazolyl(5)-yl-1-amidin hydrochlorid	++	++	++
<i>Mit Thiosemicarbazid gebildete Kondensationsprodukte von Aryl-azo-acetylacetonen</i>				
F/2354	4-Phenyl-azo-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-thiocarbonsäureamid	++	++	++
F/2355	4-(3'-Tolyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-thiocarbonsäureamid	++	++	++
F/2356	4-(4'-Tolyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-thiocarbonsäureamid	++	++	++
F/2357	4-(3'-Chlor-phenyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-thiocarbonsäureamid	++	++	++
F/2358	4-(4'-Chlor-phenyl-azo)-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-thiocarbonsäureamid	++	++	++
<i>Verschiedene andere Azo-Verbindungen</i>				
F/2361	Phenyl-azo-dicyandiamin	++	++	++
F/2362	2-Tolyl-azo-dicyandiamin	++	++	++
F/2363	3-Tolyl-azo-dicyandiamin	++	++	++
F/2368	2-Aethoxy-phenyl-azo-dicyandiamin	++	++	++
<i>Arylidien-Derivate von "aktive Methyl-Gruppe" enthaltenden Verbindungen</i>				
F/2370	Benzal-malonitril	++	++	++
F/2371	4-Chlor-benzal-malonitril	++	++	++

TABELLE 3.—*fortges.*

Nr.	Verbindungen	Atmungshemmende Wirkung			Fermentationshemmende Wirkung		
		Ohne Zufügungen	In Gegenwart von Cystein- hydrochlorid in der Konz. M/100	In Gegenwart von Na- thioglycolat in der Konz. M/100	Ohne Zufügungen	In Gegenwart von Cystein- hydrochlorid in der Konz. M/100	
F/2374	4-Dimethylamino-benzal-malonitril	++	++	+++	+	+	+
F/2375	Furfural-malonitril	+++	+++	+++	—	—	—
F/2376	Phenethyliden-malonitril	+++	+++	+++	—	—	—
F/2377	2-Naphthyl-acetyliden-malonitril	++	++	++	—	—	—
F/2378	Benzal-cyanessigsäure-methyl-ester	+	+	+	+	+	+
F/2380	4-Dimethylamino-benzal-cyanessigsäure-methyl-ester	+	+	+	—	—	—
F/2381	Furfural-cyanessigsäure-methyl-ester	+	+	+	—	—	—
F/2382	Benzal-cyanacetamid	+	+	+	—	—	—
F/2383	2-Hydroxy-benzal-cyanacetamid	+	+	+	—	—	—
F/2384	4-Hydroxy-benzal-cyanacetamid	+	+	+	—	—	—
F/2385	4-Dimethylamino-benzal-cyanacetamid	+	+	+	—	—	—
<i>Halogen-substituierte Malonitrile</i>							
F/2397	Aethyl-brom-malonitril	+++	+++	+++	—	—	—
F/2398	Benzyl-brom-malonitril	+++	+++	+++	—	—	—
F/2399	4-Chlor-benzyl-brom-malonitril	+++	+++	+++	—	—	—
<i>Zum Vergleich untersuchte Verbindungen.</i>							
	5-Nitro-furfurol-semicarbazon (= Furazin)	+	+	+	—	—	—
	3-(5-Nitro-furfural-amino)-oxazolidon-(2) (= Furoxon)	++	++	++	—	—	—
	1-Phenyl-2-nitro-propylen-1,2	++	++	++	—	—	—
	1-(4-Chlor-phenyl)-2-nitro-propylen-(1,2)	++	++	++	—	—	—
	4-Nitro-chinolin-1-oxyd	++	++	++	—	—	—
	4-Nitro-6-methyl-chinolin-1-oxyd	++	++	++	—	—	—
	2-Methyl-1,4-naphthochinon	++	++	++	—	—	—
	4-Chlor-benzyl-thiocyanat	++	++	++	—	—	—
	1-Phenyl-3,5-dimethyl-4-nitro- <i>pyrazol</i>	++	++	++	—	—	—

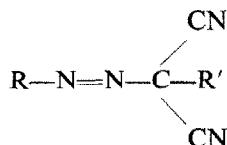
Zeichenerklärung—siehe die der Tabelle 1.
Bemerkung 1. Keine der Verbindungen von Tabelle 3, üben eine fungizide Wirkung auf die *Saccharomyces cerevisiae* unter den angewandten Versuchsbedingungen auch in der Konz. von M/1000 aus.

2. Die Ascorbinsäure kann weder die Atmungshemmende noch die Fermentationshemmende Wirkung keiner der Verbindungen von Tabelle 3 abzuwählen.

Aryl-azo-aralkyl-malonitrile dagegen nich!); ihre fermentationshemmende Wirkung wird sowohl durch das Cystein, wie auch durch das Thioglycolat gänzlich abgewehrt.

Die Tatsache, dass auch die Mehrheit der Aryl-azo-Derivate der Alkyl- und Aralkyl malonitrile in kleinerem oder grösserem Masse die Atmung der Hefe—obwohl im allgemeinen weniger, als die entsprechenden Aryl-azo-Derivate des Malonitrils—zu hemmen vermag, und dass ihre atmungshemmende Wirkung durch das Cystein genau so, wie die der Aryl-azo-malonitrile aufgehoben werden kann, ermöglicht zwei Folgerungen:

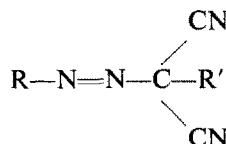
- Auch die Aryl-azo-Derivate der Alkyl- und Aralkyl-malonitrile üben ihre atmungshemmende Wirkung durch die Inhibition gewisser Sulfhydryl-Enzyme aus;
- mit Cystein vermögen nicht nur die Verbindungen von der Struktur $R-N=N-CH(CN)_2$, bzw. $R-NH-N=C(CN)_2$, sondern auch die Verbindungen von der Struktur



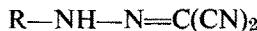
zu reagieren, für die—im Gegensatz zu den Aryl-azo-Derivaten des Malonitrils—die Möglichkeit nicht gegeben ist, sich in den Mesoxalsäuredinitril-aryl-hydrazenen entsprechenden tautomerer Form unzuwandeln, und als solche in Reaktion mit Sulfhydryl-Gruppen zu treten—da eben die Aryl-azo-Struktur in ihnen durch Alkyl- oder Aralkyl-Radikale stabilisiert ist.

Es lässt sich auch nicht annehmen, dass die Abwehrung ihrer atmungshemmenden Wirkung durch Cystein gründet sich an einer aspezifischen Disreduktion ihrer Azo-Gruppe, indem ein anderer Stoff, der annähernd dieselbe Reduktionsfähigkeit wie das Cystein selbst besitzt, nämlich die Ascorbinsäure, ihre auf die Atmung der Hefe ausgeübte hemmende Wirkung auch nicht abwehren—ja nichtein mal vermindern kann; wenn nämlich die Möglichkeit der Abwehrung ihrer Wirkung durch das Cystein nun mit der aspezifischen Disreduktion ihrer Azo-Gruppe in Zusammenhang stände, wäre ja auch die Ascorbinsäure imstande, sie disreduzieren und infolgedessen ihre atmungshemmende Wirkung aufzuheben.

Im VIII Teil unserer Mitteilungsserie² haben wir festgestellt, dass die antimikrobielle Wirkung bei den Aryl-azo-methylen-Gruppe enthaltenden Verbindungen mit der Anwesenheit des Strukturelementes

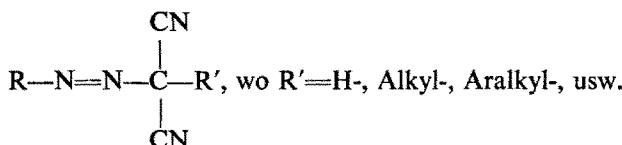


in keinem Zusammenhang steht, sondern *ausserordentlich spezifisch* an seine tautomere Form (falls $R'=H-$), d.h. an die Anwesenheit der Gruppe



gebunden ist. Unsere Feststellung ist wohl stichhaltig in Hinsicht der antimikrobiellen Wirkung der Aryl-azo-methylen-Gruppe enthaltenden Verbindungen, aber man kann diese doch nicht ohne weiteres und schematisch auf ihre auf die Atmung

der Hefe ausgeübte Wirkung anwenden. Im letzten Falle müssen wir diesen Satz mit Rücksicht auf alle Ergebnisse unserer Versuche folgendermassen in veränderter Form abfassen: die Grundbedingung der atmungshemmenden Wirkung ist in der Reihe der Aryl-azo-methylen-Gruppe enthaltenden Verbindungen, dass sich unbedingt zwei Cyan-Gruppen demselben Kohlenstoff-Atom, dem das Aryl-azo-Radikal angeschlossen ist, befinden sollen, d.h. die allgemeine Struktur der Verbindung demgemäß folgende Form haben soll:



Durch diese Erörterungen wird das allgemein bekannte chemotherapeutische Grundprinzip bewiesen und unterstützt, dass die an einem biologischen Objekt (oder Testsystem) gewonnenen Ergebnisse nicht als unbedingt gültig für ein anderes biologisches Objekt (oder Testsystem) angesehen werden können, was darauf zurückzuführen ist, dass sich die voneinander abweichenden biologischen Objekte nicht nur morphologisch, sondern auch in Hinsicht ihres biochemischen Aufbaus, ihres Stoffwechsels, sowie der Feinstruktur der ihre Stoffwechsel katalysierenden Enzyme unterscheiden. Dem morphologischen Unterschied liegen die Unterschiede im biochemischen Aufbau zugrunde, der morphologische Unterschied gilt als eine Folge, die makroskopisch oder mikroskopisch,—also auf sehr grobe Weise—sich feststellen lässt.

Die biochemischen Unterschiede der biologischen Objekte mögen sich in verschiedener Beschaffenheit der Zellwandstruktur (bzw. der Zellmembranstruktur), der Stoffwechselwege und der Struktur der sie katalysierenden Enzyme, sowie wahrscheinlich auch noch an zahlreichen solchen Punkten äussern, wovon wir zur Zeit noch keine Kenntnis haben. Die Abweichungen des biochemischen Aufbaus oder der biochemischen Funktionen bei verschiedenen biologischen Objekten (oder Testsystemen) bieten eine Erklärung dafür, warum die auf ein gegebenes biologisches Objekt gültigen Feststellungen für ein anderes biologisches Objekt nicht unbedingt gültig sind, weshalb unsere Folgerungen und Feststellungen eben eine streng beschränkte Geltung haben.

5. Die Aryl-azo-nitromethane hemmen weder die Atmung, noch die Glukose-Fermentation der Hefe. Die Aryl-azo-dicyandiamine beeinflussen die Fermentation der Hefe nicht, aber einige davon (besonders F/2363 und 2368) hemmen die Atmung in beträchtlichem Masse. Die atmungshemmende Wirkung derselben wird durch das Cystein vollständig aufgehoben. Die auf die Atmung der Hefe ausgeübte Wirkung des 2-Tolyl-azo- und 2-Aethoxy-phenyl-azo-dicyandiamins wird auch durch das Na-thioglycolat vollkommen abgewehrt, diese Wirkung des Phenyl-azo- und 3-Tolyl-azo-dicyandiamins wird dagegen überhaupt nicht beeinflusst.

Die Ergebnisse unserer Versuche lassen darauf folgern, dass die Aryl-azo-dicyandiamine, welche die Atmung der Hefe hemmen können, ihre Wirkung durch die Hemmung einiger die intermediären Stoffwechselprozesse katalysierender Sulfhydryl-enzyme, d.h. durch eine sog. "Sulfhydryl-Inhibition" ausüben.

Wir nehmen an, dass sie an die Sulphydryl-enzyme—and anhand der Abwehrungsversuche an das Cystein gleichfalls—über ihre Cyan-Radikale gebunden werden.

7. Die Monobrom-Derivate des Aethyl-, Benzyl- und 4-Chlor-benzyl-malonitrils (F/2397-2399) können die Atmung der Hefe auch in Konz. M/5000 vollständig, und ihre Glukose-Fermentation in Konz. M/1000 beträchtlich hemmen. Gleichzeitig beeinflusst das Phenyl-brom-malonitril (richtiger die Verbindung, die wir auf Grund der Herstellungsumstände und der analytischen Angaben dafür hielten) weder die Atmung, noch die Fermentation der Hefe, obwohl gewisse atmungshemmende und/oder fermentationslähmende Wirkung auf Grund seiner sehr engen strukturellen Verwandtschaft mit den Verbindungen von Nr. F/2397-2399 von dieser Seite zu erwarten wäre. Wenn man seine Inaktivität in dieser Hinsicht berücksichtigt und sie mit dem gänzlichen Fehlen der antimikrobiellen Wirkung, sowie mit dem ganz niedrigen Grad seiner akuten Toxicität (s. den VIII). Teil dieser Mitteilungsserie) vergleicht, und auf die Tatsache Rücksicht nimmt, dass das Aethyl-, Benzyl- und 4-Chlor-benzyl-brom-malonitril eine sehr beträchtliche Toxicität besitzen, ist die Annahme—unseres Erachtens—begründet dass die Verbindung, die wir bisher für Phenyl-brom-malonitril hielten, eigentlich ein Dimer, Trimer oder Polymer desselben sei; nur diese Annahme bietet eine Erklärung für die volle Wirkungslosigkeit auf alle unserer biologischen Testobjekte.

Die auf die Atmung der Hefe ausgeübte hemmende Wirkung des Aethyl-brom-malonitrils kann durch das Cystein bedeutend vermindert werden, das Na-thioglycolat ist in dieser Hinsicht wirkungslos; seine lähmende Wirkung auf die Glukose-Fermentation der Hefe wird sowohl durch das Cystein, wie auch durch das Na-thioglycolat völlig abgewehrt. Aus dieser Tatsache kann man den Schluss ziehen, dass das Aethyl-brom-malonitril sowohl seine atmungshemmende, als auch seine fermentationshemmende Wirkung durch Sulphydryl-Inhibition—vielleicht durch das Alkylieren der Sulphydryl-Gruppen von den Sulphydryl-Enzymen—gleich wie die Jodessigsäure—ausübt. Die auf die Atmung und Fermentation der Hefe ausgeübte hemmende Wirkung des Benzyl- und 4-Chlor-benzyl-malonitrils wird weder durch das Cystein, noch das Na-thioglycolat abgewehrt,—ja nicht einmal vermindert.

8. Unter den aus Aryl-azo-methylen-Gruppe enthaltenden Verbindungen gewönenen Pyrazol- und Pyrazolon-Derivaten hemmen nur die 4-Aryl-azo-3,5-dimethyl-pyrazole (F/2335-2337), die 4-Aryl-azo-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-amidin hydrochloride und die 4-Aryl-azo-3-methyl-pyrazolyl(5)-yl-1-amidin hydrochloride (F/2330-2331, 2344-2353), sowie die 4-Aryl-azo-3,5-dimethyl-pyrazolyl-1-thiokarbonsäure-amide (F/2354-2358) die Atmung der Hefe und einige von ihnen hemmen auch ihre Glukose-Fermentation mittelmässig.

9. Einige der Arylidene-Derivate der “aktive Methylen-Gruppe” enthaltenden Verbindungen üben eine mehr oder weniger hemmende Wirkung auf die Atmung der Hefe aus, zwei Stoffe von ihnen, F/2371 und 2374 hemmen auch ihre Glukose-Fermentation.

Das Cystein und das Na-thioglycolat vermögen nicht die atmungs- und fermentations-hemmende Wirkung der Verbindungen unter Punkt 7. und 8. aufzuheben, ja nicht einmal zu vermindern. Das lässt darauf schliessen, dass sie ihre hemmenden Wirkungen auf Grund eines ganz anderen Mechanismus ausüben, wie die Aryl-azo-malonitrile.

10. Die zum Vergleich untersuchten Bakteriostatika und/oder Fungistatika haben alle eine mehr oder weniger ausgedrückte hemmende Wirkung auf die Atmung und Glukose-Fermentation der Hefe. Die atmungs- und fermentations-hemmende Wirkung des 1-Phenyl-2-nitro-propylen-(1,2) und seines *p*-Chlor-Derivats wird durch das Cystein und das Na-thioglycolat bedeutend vermindert; die atmungslähmende Wirkung des 1-Phenyl-3,5-dimethyl-4-nitroso-pyrazols kann durch beide Stoffe vermindert werden, dagegen wird seine auf die Glukose-Fermentation ausgeübte hemmende Wirkung von keinem der beiden Stoffe beeinflusst.

Die atmungs- und fermentationshemmende Wirkung der zum Vergleich untersuchten anderen Bakteriostatika und/oder Fungistatika kann weder durch das Cystein noch das Na-thioglycolat abgewehrt, ja nicht einmal vermindert werden; ihre bakteriostatische und fungistatische Wirkung wird dagegen durch beide Stoffe bedeutend antagonisiert.

11. Das Kalium-cyanid gilt als wohl bekannter spezifischer Atmungsinhibitor. Während unserer Versuche war es aber doch nicht imstande, die Atmung der Hefe auch in Konz. M/1000 zu hemmen. Das ist darauf zurück-zuführen, dass das Kalium-cyanid in einer dünnen wässrigen Lösung nur bei ganz alkalischen pH-Werten stabil bleibt; bei dem von uns angewandten pH = 7,2 wird es auf Cyanwasserstoff hydrolysiert, der bei Temperatur 37°C aus dem System ausdestilliert, und so die Konzentration, die zur Herbeiführung der atmungshemmenden Wirkung nötig ist, darin nicht erreicht.

12. Keine unserer untersuchten Verbindungen übte eine fungizide Wirkung auf die *Saccharomyces cerevisiae* aus. Daraus folgt wieder, dass ihre atmungshemmende Wirkung sich nicht durch ihre auf die Hefe ausgeübte eventuelle fungizide Wirkung ergibt, und infolgedessen einen aspezifischen Charakter besitzt, sondern dass sie eben durch ihren spezifischen Eingriff in die intermediären Stoffwechselprozesse der Hefe zu erklären ist.

Zusammenfassend kann man feststellen dass die Aryl-azo-malonitrile nicht nur über antimikrobielle und ascarizide Wirkung verfügen, sondern dass sie auch auf die Atmung und Glukose-Fermentation der Hefe lähmend auswirken, und dass diese Wirkungen—wie alle ihre biologischen Wirkungen—gleichfalls struktur-spezifisch sind. Ihre atmungs- und fermentationshemmende Wirkung—ebenso wie ihre antimikrobiellen Wirkungen—vermögen das Cystein und das Thioglycolat abzuwehren, bzw. zu vermindern, woraus man eben darauf schliessen kann, dass sie ihre atmungs- und fermentationshemmende Wirkung durch die Lähmung der Tätigkeit verschiedener Sulphydryl-Enzyme ausüben, die im Trikarbonsäure-Zyklus, bzw. in der Glykolyse eine wichtige Rolle spielen.

Zusammenfassung—Verfasser hat die auf die Atmung und Glukose-Fermentation der *Saccharomyces cerevisiae* ausgeübte hemmende Wirkung der verschiedenen Aryl-azo- und Arylidene-Derivate der “aktive Methylen- und Methenyl-Gruppe” enthaltenden Verbindungen, der aus ihnen gewonnenen Aryl-azo-pyrazole, ausserdem die von Aryl-azo-nitromethanen, Aryl-azo-dicyandiaminen, und Ausgangsstoffen aller diesen Verbindungstypen und einiger zum Vergleich herangezogenen wohl bekannten Bakteriostatika und Fungistatika studiert.

Er hat die Erfahrung gemacht, dass nur die Aryl-azo-malonitrile von den Aryl-azo-Derivaten der “aktive Methylen- und Methenyl-Gruppe” enthaltenden Verbindungen die Atmung und Glukose-Fermentation der Hefe in bedeutendem Masse hemmen können. Diese Wirkungen vermögen aber sowohl das Cystein, wie auch das Thioglycolat abzuwehren, bzw. beträchtlich zu vermindern. Die Atmung der Hefe wird

durch die 4-Aryl-azo-3,5-dimethyl-pyrazole, die 4- Aryl-azo-3,5-dimethyl-pyrazolyl-l-amidin-hydrochloride, sowie auch durch die 4-Aryl-azo-3-methyl-pyrazolon(5)-yl-l-amidin-hydrochloride in bedeutendem Masse, dagegen durch die 4-Aryl-azo-3,5-dimethyl-pyrazolyl-l-thiocarbonsäureamide, die Arylidens-malonitrile und die Arylidencyanessigsäure-ester nur mittelmässig gehemmt.

Ihre atmungshemmende Wirkung kann aber weder durch das Cystein noch das Thioglycolat abgewehrt werden, demgemäss ist ihr Wirkungsmechanismus ganz anders geschaffen, wie derjenige der Aryl-azo-malonitrile.

Verfasser behandelt die Zusammenhänge zwischen der Struktur und Wirkung innerhalb dieser Verbindungstypen, und zieht Schlüsse in Bezug auf den vermutlichen Wirkungsmechanismus der aktiv gefundenen Verbindungen.

LITERATUR

1. T. ZSOLNAI, *Biochem. Pharmac.*, **13**, 285 (1964).
2. T. ZSOLNAI, *Biochem. Pharmac.*, **14**, 1325 (1965).