

nicht anzunehmen, dass dies auch bei der Zimtsäure noch der Fall ist, sondern wir möchten in der durch diese Säure bedingte Wachstumshemmung eine einfache Desinfektionswirkung sehen.

Wir möchten auch an dieser Stelle der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel für die Unterstützung unserer Untersuchungen unsern besten Dank sagen.

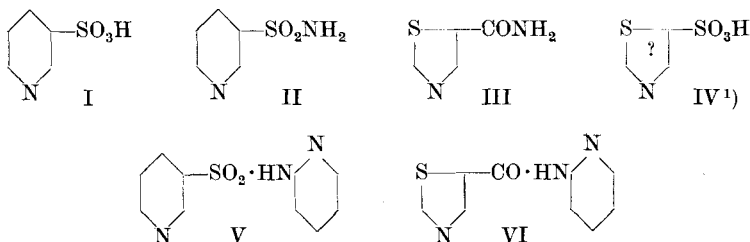
Basel, Hygienisches Institut der Universität und
Anstalt für Anorganische Chemie.

111. Über die Wirkung einiger Pyridin- und Thiazolderivate auf das Wachstum von *Staphylococcus aureus*

von H. Erlenmeyer, Hubert Bloch und Hans Kiefer.

(2. VII. 42.)

In Fortsetzung unserer Versuche über die strukturehemischen Beziehungen zwischen Verbindungen, die als Wuchs- oder Hemmstoff das Wachstum von Mikroorganismen beeinflussen, berichten wir in der vorliegenden Mitteilung über die Wirkung einiger Verbindungen der Pyridin- und Thiazolreihe (I—VI) auf das Wachstum von *Staphylococcus aureus*.



Methodik: Als Nährmedium für sämtliche Versuche verwendeten wir eine Lösung folgender Zusammensetzung:

KH_2PO_4	4,5 g
K_2HPO_4	0,5 g
Cystin	0,05 g
$\text{FeSO}_4 \cdot (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0,05 g in 10 cm ³ 0,02-n. HCl
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,04 g in 10 cm ³ Wasser
Gelatine-Hydrolysat ²⁾	1,0 cm ³
Zweimal destilliertes Wasser	900,0 cm ³

¹⁾ Erhalten durch Sulfurieren von 2-Amino-thiazol und nachfolgende Entfernung der NH_2 -Gruppe. Die vorläufige Formulierung als 5-Sulfonsäure ist aus Analogiegründen wahrscheinlich. Eine Entscheidung auf Grund eines sicheren Konstitutionsbeweises, ob eine 5- oder 4-Säure vorliegt, wird in einer späteren Mitteilung erfolgen.

²⁾ Herstellung des Gelatine-Hydrolysats: 100 g Gelatine werden in 500 cm³ 10-proz. Schwefelsäure gelöst und während 3 Stunden im Autoklaven auf 130° erhitzt. Hierauf werden die Sulfate mit Bariumcarbonat gefällt und die Lösung auf 200 cm³ eingengt und filtriert.

Einstellen auf pH 7,3; aufkochen; abkühlen lassen; filtrieren; zusetzen von 10 cm³ einer 25-proz. Glucoselösung; auffüllen auf 950 cm³; abfüllen in Röhren à 9 cm³; sterilisieren im strömenden Dampf (zweimal 45 Minuten).

Für den Versuch wurden die Röhren stets auf ein Endvolumen von 10 cm³ gebracht. Sämtliche Versuche wurden in drei parallelen Ansätzen durchgeführt, die meisten Versuche mehrfach wiederholt. Abweichungen im Verhalten einzelner Parallelröhren wurden selten beobachtet.

Keime: Alle Versuche wurden mit dem gleichen, aus einem Eiter isolierten Stamm von *Staphylococcus aureus* ausgeführt. Der Stamm wurde alle paar Tage von Schrägagar auf Schrägagar überimpft. Hiervon wurden stets frische Kochsalzabschwemmungen gemacht und mit dem Nährmedium die gewünschte Verdünnung hergestellt. Grösse des Inoculums: 600—1000 Keime (Keimzahl mit dem Platten-gussverfahren ermittelt).

In dem angegebenen Nährmedium vermögen die Staphylokokken nicht zu wachsen, wenn nicht spezifische Wuchsstoffe zugegeben werden. Solche Wuchsstoffe sind bekanntlich Aneurin und Nicotinsäure-amid. Nach den Angaben der meisten Autoren benötigen nun Staphylokokken beide Stoffe zu ihrer Vermehrung¹⁾. Einzig *Sartory, Meyer* und *Netter*²⁾ berichten, dass es ihnen gelungen sei, Staphylokokken unter Zugabe des einen oder des andern Vitamins zu züchten. Entsprechend diesen Angaben fanden auch wir, dass unter den erwähnten Bedingungen Staphylokokken auch nach Zusatz von Nicotinsäure bzw. Nicotinsäure-amid allein, ohne Aneurin, ein optimales Wachstum zeigten. Wird Aneurin zugesetzt, so ist die maximale Keimzahl etwas rascher erreicht; überdies benötigen die Keime weniger Nicotinsäure oder Nicotinsäure-amid-Zusatz, als wenn ihnen kein Aneurin zur Verfügung steht. Umgekehrt vermag Aneurin allein nur in sehr hohen Dosen, 0,002-m., und erst nach langer Zeit (6—10 Tage) ein spärliches Wachstum zu bewirken. Angesichts der Tatsache, dass in Verbindung mit Nicotinsäure oder Nicotinsäure-amid noch sehr geringe Mengen von Aneurin genügen, um optimales Wachstum zu erzeugen, vermögen wir jedoch nicht mit absoluter Sicherheit zu sagen, ob nicht das Gelatine-Hydrolysat kleinste Spuren dieses Wuchsstoffes enthielt, welche das Wachstum der Keime erst ermöglichten. Wie dem auch sei, ist das Wachstum von Staphylokokken auf dem beschriebenen Nährboden ein zuverlässiger Test für Nicotinsäure und ähnlich wirkende Substanzen, sodass eindeutige Bedingungen für die nachfolgenden Versuche erfüllt waren.

¹⁾ Literaturübersicht s. z. B. bei *E. Strauss, J. H. Dingle* und *M. Finland, J. Immunol. (Am.)* **42**, 313 und 331 (1941).

²⁾ *A. Sartory, J. Meyer* und *A. Netter, Bull. Acad. Méd.* **121**, 815 (1939).

1. Pyridin-3-sulfonsäure (I).

Nach den Angaben von *H. McIlwain*³⁾ übt diese Verbindung auf das Wachstum von *Staphylococcus aureus* eine Hemmwirkung aus. Im Gegensatz zu diesem Befund konnten wir bei dem von uns verwendeten Stamm keine Hemmwirkung auf das durch Nicotinsäure geförderte Wachstum beobachten. Der folgende Versuch zeigt im Gegenteil, dass die wachstumsfördernde Wirkung der Nicotinsäure durch Pyridin-3-sulfonsäure noch verstärkt wird.

Tabelle 1. (Versuch Nr. 62.)

Röhrchen	Pyridin-3-sulfonsäure M/—.	Nicotin-säure M/—.	Wachstum nach		
			24 h	48 h	72 h
1	0	0	—	—	—
2	1000	0	—	—	—
3	1000	100000	+	+++	+++
4	1000	500000	—	+++	+++
5	1000	2500000	—	+++	+++
6	5000	0	—	—	—
7	5000	100000	+	+++	+++
8	5000	500000	—	++	+++
9	5000	2500000	—	++	+++
10	0	100000	Sp	+	++
11	0	500000	—	Sp	++
12	0	2500000	—	—	+

Erklärung der Zeichen: — = kein sichtbares Wachstum.

Sp = gerade noch wahrnehmbare Trübung.

+= Trübung.

++ = starke Trübung.

+++ = sehr starke Trübung.

Hingegen geht aus Tabelle 2 hervor, dass Pyridin-3-sulfonsäure bei Abwesenheit von Nicotinsäure nicht als selbständiger Wuchsstoff zu wirken vermag.

Tabelle 2. (Versuch Nr. 70.)

Röhrchen	Pyridin-3-sulfonsäure M/—.	Wachstum nach			
		24 h	48 h	72 h	6 Tage
1	0	—	—	—	—
2	100	—	—	—	—
3	500	—	—	—	—
4	2500	—	—	—	—
5	12500	—	—	—	—
6	Bouillonkontrolle	++	+++	+++	+++

Zeichenerklärung s. Tabelle 1.

³⁾ *H. McIlwain*, Brit. J. exptl. Path. **21**, 136 (1940).

Auf das durch das Amid der Nicotinsäure geförderte Wachstum von *Staphylococcus aureus* hat Pyridin-3-sulfonsäure keinerlei Wirkung. Gleicherweise wie die Pyridin-3-sulfonsäure verhält sich auch das Natriumsalz dieser Säure.

2. Pyridin-3-sulfonamid (II).

Pyridin-3-sulfonamid zeigt eine deutliche, wenn auch nicht sehr starke hemmende Wirkung auf das durch Nicotinsäure-amid geförderte Wachstum von *Staphylococcus aureus*. Die Hemmung wird durch Zugabe von Nicotinsäure-amid aufgehoben.

Tabelle 3. (Versuch Nr. 54.)

Röhrchen	Pyridin-3-sulfonamid M/— .	Nicotin-säure-amid M/— .	Wachstum nach		
			24 h	36 h	48 h
1	0	0	—	—	—
2	1000	0	—	—	—
3	1000	100000	++	+++	+++
4	1000	500000	Sp	+	++
5	1000	2500000	—	Sp	+
6	1000	12500000	—	—	—
7	5000	0	—	—	—
8	5000	100000	++	+++	+++
9	5000	500000	+	+++	+++
10	5000	2500000	Sp	+	++
11	5000	12500000	—	—	—
12	0	100000	+++	+++	+++
13	0	500000	+++	+++	+++
14	0	2500000	++	+++	+++
15	0	12500000	+	++	+++

Zeichenerklärung s. Tabelle 1.

Ebensowenig wie Pyridin-3-sulfonsäure vermag Pyridin-3-sulfonamid die Nicotinsäure bzw. das -amid als Wuchsstoff zu vertreten, wie das aus Tabelle 4 hervorgeht.

Tabelle 4. (Versuch Nr. 44.)

Röhrchen	Pyridin-3-sulfonamid M/— .	Wachstum nach			
		24 h	48 h	72 h	6 Tage
1	0	—	—	—	—
2	100	—	—	—	+
3	500	—	—	—	—
4	2500	—	—	—	—
5	12500	—	—	—	—
6	Bouillonkontrolle	+	+++	+++	+++

Zeichenerklärung s. Tabelle 1.

3. Thiazol-5-carbonsäure-amid (III).

In früheren Versuchen¹⁾ konnte gezeigt werden, dass Thiazol-5-carbonsäure-amid die hemmende Wirkung von Pyridin-3-sulfonsäure auf das Wachstum von *Proteus vulgaris* antagonistisch zu beeinflussen vermag. Im Gegensatz dazu wurde bei Staphylokokken das durch Nicotinsäure-amid geförderte Wachstum durch Thiazol-5-carbonsäure-amid schwach gehemmt.

Tabelle 5.
(Versuch Nr. 66.)

Röhrchen	Thiazol-5-carbonsäure-amid M/—.	Nicotinsäure-amid M/—.	Wachstum nach		
			24 h	36 h	48 h
1	0	0	—	—	—
2	1000	0	—	—	—
3	1000	200000	++	+++	+++
4	1000	1000000	+	++	+++
5	1000	5000000	—	Sp	+++
6	1000	25000000	—	—	—
7	5000	0	—	—	—
8	5000	200000	++	+++	+++
9	5000	1000000	++	+++	+++
10	5000	5000000	Sp	++	+++
11	5000	25000000	Sp	+	+
12	0	200000	++	+++	+++
13	0	1000000	+++	+++	+++
14	0	5000000	+	++	+++
15	0	25000000	Sp	+	++

Zeichenerklärung s. Tabelle 1.

Irgendwelche wachstumsfördernde Wirkung vermag Thiazol-5-carbonsäure-amid nicht zu entfalten.

4. Thiazolsulfonsäure (IV).

Die Prüfung der Thiazol-5-sulfonsäure(?) auf das Wachstum von Staphylokokken ergab, dass diese Sulfonsäure die Nicotinsäure bzw. das Nicotinsäure-amid als Wuchsstoff zu ersetzen vermag, wenn auch die benötigten Mengen der Sulfonsäure grösser sind als diejenigen der Nicotinsäure.

¹⁾ H. Erlenmeyer und W. Würzler, *Helv.* **25**, 249 (1942).

Tabelle 6.
(Versuch Nr. 73.)

Röhrchen	Thiazolsulfon- säure M/—.	Wachstum nach		
		24 h	48 h	72 h
1	0	—	—	—
2	1000	++	+++	+++
3	5000	+	+	++
4	25000	—	Sp	+
5	125000	—	—	—

Zeichenerklärung s. Tabelle 1.

Tabelle 7.
(Versuch Nr. 71.)

Röhrchen	Thiazol- sulfonsäure M/—.	Nicotin- säure M/—.	Wachstum nach		
			24 h	48 h	72 h
1	0	0	—	—	—
2	1000	0	++	+++	+++
3	1000	20000	++	+++	+++
4	1000	100000	++	++	+++
5	1000	500000	++	++	+++
6	1000	2500000	++	++	+++
7	5000	0	Sp	+	++
8	5000	20000	+	+	+++
9	5000	100000	Sp	+	+++
10	5000	500000	Sp	Sp	++
11	5000	2500000	Sp	Sp	+
12	0	20000	—	++	+++
13	0	100000	—	+	++
14	0	500000	—	+	+
15	0	2500000	—	Sp	+

Zeichenerklärung s. Tabelle 1.

5. 2-[Pyridin-3-sulfonsäure-amido]-pyridin (V).

Wie aus der Tabelle 8 hervorgeht, vermag auch diese Verbindung (Smp. 185—186° (unkorr.)) die Nicotinsäure bzw. das Nicotinsäureamid in ihren Funktionen als Wuchsstoff zu ersetzen, indem sie das Wachstum von *Staphylococcus aureus* unter den beschriebenen Bedingungen ermöglicht.

Tabelle 8.
(Versuch Nr. 58.)

Röhrchen	Pyridin-3-sulfon- (2-pyridyl)amid M/—.	Wachstum nach		
		24 h	48 h	72 h
1	0	—	—	—
2	1000	+	++	+++
3	5000	—	+	+
4	25000	—	—	—

Zeichenerklärung s. Tabelle 1.

6. 2-[Thiazol-5-carbonsäure-amido]-pyridin (VI).

Im Gegensatz zur vorherigen vermag diese Verbindung (Smp. 143 bis 144° (unkorr.)) weder die Nicotinsäure in ihrer wachstumsfördernden Funktion zu ersetzen, noch kommt ihr eine nennenswerte Hemmwirkung auf das durch Nicotinsäure geförderte Wachstum von Staphylokokken zu.

Die Ergebnisse dieser Wachstumsversuche lehren, dass sich der untersuchte Stamm von *Staphylococcus aureus* gegenüber den vorliegenden Pyridin- und Thiazolverbindungen z. T. durchaus anders verhält als z. B. *Proteus vulgaris*, der nach den Befunden zahlreicher Autoren ¹⁾ ²⁾ ³⁾ ebenfalls ein Nicotinsäure-bedürftiger Organismus ist. Um zu ermitteln, inwiefern experimentell gefundene Gesetzmässigkeiten, die den Wechselbeziehungen verschiedener Wuchs- und Hemmstoffe zugrunde liegen, von einem Bakterienstamm zum andern variieren, wird es deshalb nötig sein, zu untersuchen, wie die hier geprüften Substanzen auf andere *Proteus*- und *Staphylokokken*stämme wirken.

Wir möchten auch an dieser Stelle der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel für die Unterstützung unserer Untersuchungen unsern besten Dank sagen.

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

¹⁾ Siehe: A. Lwoff und A. Querido, C. r. Soc. Biol. **130**, 1569 (1939).

²⁾ H. McIlwain, Brit. J. exptl. Path. **21**, 136 (1940).

³⁾ H. Erlenmeyer und W. Würzler, Helv. **25**, 249 (1942).