

### Zusammenfassung.

Es werden Hydrazinoderivate des Phtalazins und des Pyridazins beschrieben, über deren pharmakologisches Interesse an anderer Stelle berichtet worden ist. Die am Grundtypus vorgenommenen chemischen Abwandlungen betreffen die Substitutionen am heterocyclischen oder aromatischen Ring, den Ersatz des aromatischen Kerns durch den Pyridinring und schliesslich Veränderungen am Hydrazinrest.

Bei der Einwirkung von Acylierungsmitteln auf 1-Hydrazinophtalazine entstehen unter Ringschluss Triazolophtalazine. Unter den mit Oxoverbindungen erhältlichen Phtalazinyl-hydrazone lassen sich einige unter Spaltung einer C—C-Bindung ebenfalls in Triazolophtalazine überführen.

Es werden noch einige weitere Reaktionen der Hydrazingruppe beschrieben.

Forschungslaboratorien der *CIBA-Aktiengesellschaft*, Basel,  
Pharmazeutische Abteilung.

---

## 22. Voraussage der bakteriziden Wirkung von Substanzen durch Bestimmung ihrer Affinität zu Wolle

von **Roland Fischer<sup>1)</sup>, A. Hoelle und S. Seidenberg.**

(14. XII. 50.)

### I. Prognose der *Gram*-positiven Bakterizidie.

In zwei vorangegangenen Mitteilungen<sup>2)</sup> haben wir unter Zuhilfenahme von 16 chemisch verschiedenen Substanzen feststellen können, dass zwischen der Affinität einer wasserlöslichen Substanz zu Wolle einerseits und der bakteriziden<sup>3)</sup> Wirksamkeit derselben Substanz anderseits eine weitgehende Korrelation besteht. Auch konnte gezeigt werden, dass diese Korrelation innerhalb der kationaktiven und gesondert für die anionaktiven Substanzen Gültigkeit besitzt; je grösser die Affinität zu Wolle, um so grösser die bakterizide Wirksamkeit.

Wir haben inzwischen die Mikromethode unserer Affinitätsbestimmung zu Wolle weiter verfeinert und für simultane Serienbestimmungen durchführbar gestaltet.

---

<sup>1)</sup> Ab März: Biology Department of the University of Ottawa, Canada.

<sup>2)</sup> 1. Mitt. *R. Fischer, S. Seidenberg & U. P. Weis*, Helv. **32**, 8 (1949); 2. Mitt. *S. Seidenberg, M. Erne & R. Fischer*, Exper. **6**, 192 (1950).

<sup>3)</sup> Es handelt sich dabei um Bakterizidie *in vitro*.

Unter Verwendung dieser Methodik haben wir zunächst von 5 schon vorher versuchten Produkten ihre Affinität zu Wolle neu bestimmt, um für weitere Untersuchungen eine feste Vergleichsbasis zu gewinnen. Gleichzeitig wurden zum erstenmal  $\text{CuCl}_2$  und  $\text{HgCl}_2$  in diese Versuche miteinbezogen; es schien nämlich wünschenswert, die oben formulierte Korrelation auch auf Metallsalze auszudehnen, da solche unter den bisher demonstrierten Substanzen noch nicht figurierten.

Die tabellarische Zusammenstellung der erhaltenen Resultate sowie ihre graphische Darstellung in der Figur 1 erlauben uns folgende Schlüsse zu ziehen:

a) Auch Metallsalze zeigen die Korrelation: grössere Affinität zu Wolle — grössere bakterizide Wirksamkeit.  $\text{CuCl}_2$  sollte theoretisch unwirksam sein und seine praktisch geringe bakterizide Wirksamkeit — welche mit seinem minimen Affinitätswert zu Wolle korrespondiert — führen wir auf die in der  $\text{CuCl}_2$ -Lösung (nach dem Erhitzen und Stehenlassen) sich bildenden Hydroxyde zurück.  $\text{HgCl}_2$  (Sublimat) weist einen hohen Affinitätswert zu Wolle auf und ist auch bakterizid hoch wirksam.

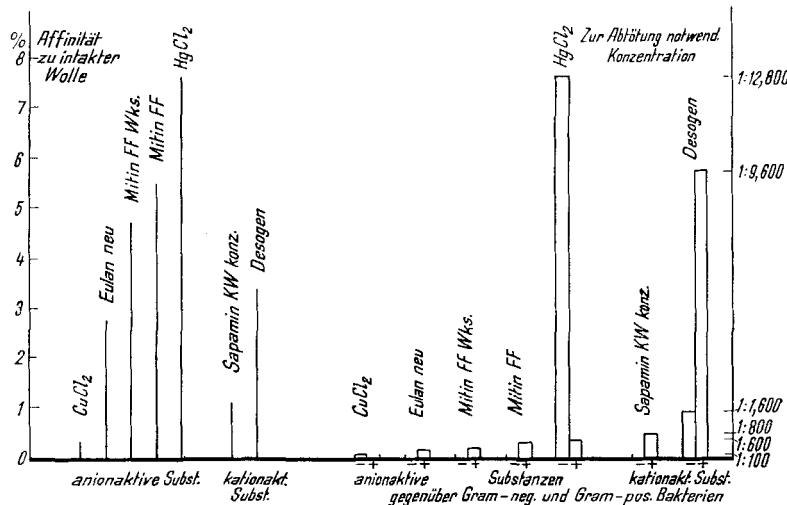


Fig. 1.  
Korrelation zwischen Affinität zu Wolle und bakterizider Wirksamkeit.

b) Metallsalze reihen sich zu der Gruppe der anionaktiven Substanzen und eine Prognose ihrer Bakterizidie — auf Grund ihrer Affinitätswerte zu Wolle — kann nur im Vergleich zu anderen anionaktiven Substanzen aufgestellt werden.

c) Ein Vergleich der linken Seite der Figur 1 (Affinitätswerte zu Wolle) mit der rechten (bakterizide Wirkung gegen ein extrem

Gram-positives und ein extrem Gram-negatives Bakterium<sup>1)</sup> lässt erkennen, dass die besagte Korrelation noch weiter eingeengt und folgendermassen neu formuliert werden muss: je grösser die Affinität einer Substanz zu Wolle, um so grösser ist die bakterizide Wirksamkeit dieser Substanz gegenüber Gram-positiven Bakterien. Selbstverständlich gilt diese Korrelation ebenfalls gesondert für kationaktive und gesondert innerhalb der anionaktiven Substanzen<sup>2)</sup>. Aus der Tabelle 1 ist ersichtlich, dass den stufenweise ansteigenden Affinitätswerten ein ebenfalls gradueller Anstieg der bakteriziden Wirksamkeit gegenüber dem Gram-positiven Bakterium entspricht.

| Bezeichnung der Substanzen  | Neutrale Affinität zu Wolle in % | Zur Abtötung notwendige Konz. gegenüber Staph. aur. haem. B. parayphi B |           |
|-----------------------------|----------------------------------|---|-----------|
|                             |                                  | (Gram +)  | (Gram -)  |
| CuCl <sub>2</sub> . . . . . | 0,31                             | 1:25–1:50   | 1:100     |
| Eulan neu . . . .           | 2,75                             | 1:240   | unwirksam |
| Mitin FF Wks. . .           | 4,75                             | 1:200–1:400   | unwirksam |
| Mitin FF . . . . .          | 5,5                              | 1:500   | unwirksam |
| HgCl <sub>2</sub> . . . . . | 7,61                             | 1:400–1:800   | 1:12800   |
| Sapamin KWkonz.             | 1,07                             | 1:800   | unwirksam |
| Desogen . . . . .           | 3,35                             | 1:6400–1:12800  | 1:1600    |

Mit der Verdoppelung des Affinitätswertes von Eulan neu – zweite Substanz der anionaktiven Reihe – von 2,75% auf 5,5% im Falle von Mitin FF – vierte Substanz der anionaktiven Reihe – korrespondiert auch eine Verdoppelung der bakteriziden Wirksamkeit gegenüber Staph. aur. haem. (Gram+). Dem Quadrat des Affinitätswertes von Eulan neu (2,75%) entspricht im Falle von HgCl<sub>2</sub> (7,6%)<sup>3)</sup> ein 2,5facher Anstieg der bakteriziden Wirkung gegenüber Staph. aur. haem. In der kationaktiven Reihe entspricht einer Verdreifachung des Affinitätswertes eine 12fache Steigerung der Gram-positiven Bakterizidie.

Es fällt auf, dass im Rahmen dieser Korrelation die kationaktiven (basischen) Substanzen durch viel geringere Affinitätswerte zu Wolle sich auszeichnen, trotz ihrer bedeutenden bakteriziden Wirksamkeit, währenddem die zur Wolle stark affinen anionaktiven (sauren) Substanzen eine geringere bakterizide Wirkung gegenüber

<sup>1)</sup> Die Beschreibung unserer Methode zwecks Feststellung der bakterienabtötenden Wirkung (Auswertung nach 5 Minuten) siehe unsere 1. Mitteilung, loc. cit. Die graphische Darstellung enthält die Mittelwerte der in der Tabelle angeführten bakteriziden Wirksamkeit.

<sup>2)</sup> Bezüglich der chemischen Konstitution der Substanzen siehe unsere 1. und 2. Mitteilung, loc. cit.; Mitin FF Wks = Wirksubstanz des Handelsproduktes Mitin FF, wobei das letztere aus ca. 20% Wirksubstanz besteht. Dass durch Zusätze, welche die Affinität erhöhen (z. B. Salz) auch die bakterizide Wirkung erhöht wird, darauf haben wir schon in unserer 2. Mitteilung, loc. cit., hingewiesen.

<sup>3)</sup> 2,75<sup>2</sup> = 7,56; die Werte 7,6 und 7,56 liegen innerhalb der Fehlergrenze der Affinitätsbestimmungsmethode.

*Gram*-positiven Bakterien aufweisen. Diese Tatsache ist aber insfern verständlich, dass zur Wolle, welche ja mehr basische als saure Gruppen enthält<sup>1)</sup>, die anionaktiven (sauren) Substanzen eine höhere Affinität — im Sinne der Salzbildung — zeigen müssen, wie die kationaktiven (basischen) Substanzen.

## II. Wollabbau.

Ein Blick auf Figur 1 lässt erkennen, dass die Bakterizidie gegenüber dem Vertreter der extrem *Gram*-negativen Bakterien (*B. paratyphi B*) zwar auch im Rahmen der steigenden Affinität zu Wolle eingegliedert werden kann, doch entspricht die hohe *Gram*-negativ-Wirksamkeit von  $HgCl_2$  bzw. die relativ geringe Wirksamkeit von Desogen nicht den in der anion- bzw. kationaktiven Reihe graduell sich erhöhenden Affinitätswerten zu Wolle. Im Gegensatz zur *Gram*-positiven Wirksamkeit von Substanzen, Wirksamkeit, welche mit der Affinität derselben Produkte zu Wolle eindeutig korrespondiert, ist z. B. eine Prognose der *Gram*-negativen Bakterizidie auf Grund der Affinitätswerte zu Wolle nicht möglich.

Da die von uns bisher praktizierte Bestimmung der Affinität zu intakter Wolle nur zur Prognose der *Gram*-positiven Bakterizidie von Substanzen herangezogen werden kann, sahen wir uns gezwungen, das Bakterienmodell Wolle so zu „bearbeiten“, dass sie auch fähig sei, die *Gram*-negative Bakterizidie wenigstens approximativ voraussagbar zu gestalten. Ein systematischer Abbau der im Überschuss vorhandenen basischen Gruppen der Wolle schien uns zu diesem Zwecke erfolgversprechend zu sein; der von *Elöd, Nowotny & Zahn* in anderem Zusammenhang ausgeführte Sodaabbau der Wolle mit 0,15-n.  $Na_2CO_3$  (Fig. 2) wurde daher von uns reproduziert (siehe Fig. 3, „S“-Kurve). Wie ersichtlich, verliert die Wolle durch diese Behandlung in z. B. 1 Stunde bei  $80^\circ$  nur 5% ihres Gewichts<sup>2)</sup>, währenddem gleichzeitig ein ca. 50-proz. Cystin-Umsatz<sup>3)</sup> stattfindet (Fig. 2).

Der Wollabbau geht zunächst mit einer Verminderung der überschüssigen basischen Gruppen der Wolle einher, und nach dieser

<sup>1)</sup> Funktionelle Seitenkettenreste in  $10^5$  g Wolle in Molen: OH-Gruppen 179; basische Gruppen 88; saure Gruppen 59; Säureamid-Gruppen 100; Cystin/2- und Cystein-Gruppen 106 (nach *H. Zahn*, Textilpraxis 1949, 329).

<sup>2)</sup> Das heisst, dass 5% des intakten Wollgewichts in Lösung gehen.

<sup>3)</sup> Im Zusammenhang mit dem sehr komplexen Gebiet der Wollkonstitution sowie der Schädigung (Abbau) der Faserkeratine sei auf ein Sammelreferat von *H. Zahn*, Mell. Textber. 30, 275, 294 (1949), hingewiesen, welches über die eigenen Ergebnisse hinaus auch die wichtigsten Forschungsarbeiten von *Astbury, Consden, Elöd, Gordon, Harris, Harrison, Martin, Middlebrook, Reumuth, Schöberl* und *Speakman* usw. berücksichtigt. Einige der wichtigen, allerneuesten Arbeiten, die auch das Cystin- (2 Fraktionen) Problem berühren, stammen von *Alexander, Hudson & Fox, Consden & Gordon* sowie *Lindley* und befinden sich alle im Jahrgang 1950 des Biochem. Journals.

„Neutralisation“ erfolgt ein immer deutlicheres Vorherrschen der sauren Wolleiweiss-Gruppen. Uns interessierte in der Hauptsache, wie sich unsere kation- und anionaktiven Substanzen hinsichtlich ihrer Affinität zu den einzelnen Sodaabbau-Stufen der Wolle verhalten werden.

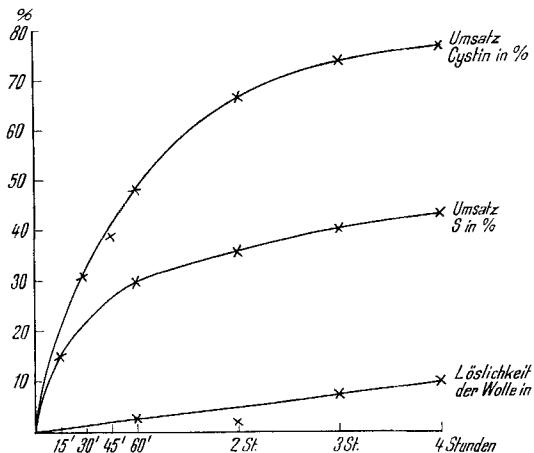


Fig. 2.

Einwirkung von 0,15-n. Sodalösung auf Wolle bei 80° nach *Elöd, Nowotny & Zahn, Mell.* Textber. 23, 58 (1942).

Die Tabelle sowie Figur 3 zeigen uns folgende Resultate: Hauptsächlich im Sinne einer erhöhten Salzbildungsfähigkeit „ziehen“ die kationaktiven (basischen) Substanzen — Sapamin KW konz. (I) und Desogen (II) — in immer steigendem Masse auf stufenweise abgebaute Wolle, während die anionaktiven (sauren) Produkte — (Substanzen 1, 2, 3 und 4) — sich notwendigerweise gerade umgekehrt verhalten.

Diesem generellen Vorgang geht ein durch zwei anionaktive Substanzen (2 und 4) demonstrierte andere Wirkung voran. Zu den 5- und 15-Minuten-Abbaustufen der Wolle zeigen nämlich Eulan neu und Mitin FF Wks. eine plötzlich ansteigende, sehr hohe Affinität, welche erst nachher graduell abnimmt. Den plötzlichen Anstieg der Affinitätswerte dieser zwei Substanzen könnte man sich auf zwei Arten erklären:

1. Durch eine erhöhte Salzbildung, welche durch die plötzlich eintretende Enolisierung<sup>1)</sup> eines Teils der Wollquerbindungen der mit Sodalösung „modellierten“ Wolle bedingt sein könnte; der weitere Abbau (15 Min. bis 4 Stunden) bringt aller Wahrscheinlichkeit nach eine langsam fortschreitende Aufspaltung des Woll-Cystins und Abspaltung von SH-Gruppen mit sich. In diesem Sinne könnte angenommen werden, dass die Anfangsetappe des Wollabbaus zunächst als Salzbildung und nachher als Adsorption sich auf die ansteigende bzw. absteigende Affinität kation- bzw. anionaktiver Sub-

<sup>1)</sup> Die 2—4-Stunden-Etappen des Wollabbaus sind durch die Entstehung von giftigen Gasen gekennzeichnet; diese Übelkeit verursachenden, flüchtigen, S-haltigen Produkte — vielleicht Amine — mahnen daran, den Wollabbau unbedingt unter einem gut ventilierbaren Abzug durchzuführen.

stanzen zu abgebauter Wolle auswirkt. Unter Salzbildung verstehen wir die Ionenaffinität und unter Adsorption die Affinität der undissoziierten Molekel. Theoretisch nehmen wir an, dass der Gesamtaufzieheffekt einer Substanz zu Wolle sich aus Salzbildung, echter Adsorption und Austauschadsorption zusammensetzt; die Rolle der Austauschadsorption kann natürlich aus obigen Versuchen nicht beurteilt werden.

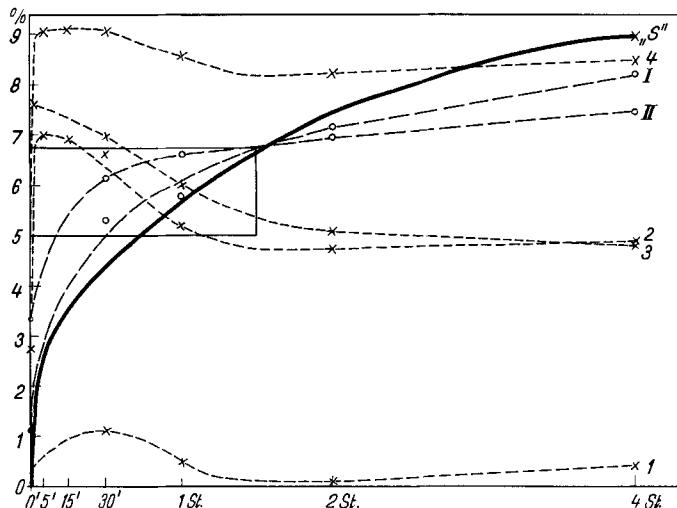


Fig. 3.

Gewichtsabnahme der Wolle in % bei fortschreitendem Sodaabbau (0–4 Std.): „S“, sowie Affinität anionaktiver (1, 2, 3, 4) und kationaktiver (I, II) Substanzen in % zu intakter und fortschreitend abgebauter Wolle.

| Abbau der Wolle mit 0,15-n. Soda bei 80° |                      |
|--|----------------------|
| Abbauzeit                                | Gewichtsverlust in % |
| 5 Minuten                                | 2,62                 |
| 15 Minuten                               | 3,38                 |
| 30 Minuten                               | 4,41                 |
| 1 Stunde                                 | 5,65                 |
| 2 Stunden                                | 7,47                 |
| 4 Stunden                                | 9,00                 |

| Nr. | Substanzen        | % Affinität zu Wolle nach einer Abbauzeit der Wolle von |      |      |      |        |        |        |
|-----|-------------------|---|------|------|------|--------|--------|--------|
|     |                   | 0'  | 5'   | 15'  | 30'  | 1 Std. | 2 Std. | 4 Std. |
| 1   | CuCl <sub>2</sub> | 0,31  |      |      | 1,08 | 0,48   | 0,11   | 0,44   |
| 2   | Eulan neu         | 2,75  | 7,00 | 6,93 | 6,63 | 5,21   | 4,77   | 4,94   |
| 3   | HgCl <sub>2</sub> | 7,61  |      |      | 6,96 | 6,02   | 5,10   | 4,83   |
| 4   | Mitin FF Wks.     | 4,75  | 9,09 | 9,14 | 9,14 | 8,60   | 8,27   | 8,55   |
| I   | Sapamin KW konz.  | 1,07  |      |      | 5,30 | 5,78   | 7,18   | 8,25   |
| II  | Desogen           | 3,35  |      |      | 6,14 | 6,58   | 6,98   | 7,51   |

2. Wir könnten auch der Meinung sein, dass der plötzliche Affinitätsanstieg mit der raschen Bildung neuer salzbildender Gruppen (aus den Querbrücken – Salzbrücken, Cystinbrücken und Wasserstoffbrücken – der Wolle) zusammenhängt. Der weitere Abbau der Wolle geht im Sinne einer Aufspaltung der Peptidbindungen vor sich, wobei basische und saure Gruppen in äquivalenter Anzahl gebildet werden. Des weiteren werden aber neue saure Gruppen frei oder (und) basische Gruppen durch innere Salzbildung blockiert. Für die Wahrscheinlichkeit einer solchen Veränderung der Wolleweißmolekülen spricht das während des Wollabbaus (2–4-Stunden-Phase) von uns beobachtete Entweichen von flüchtigen Verbindungen, deren Geruch an Mercaptane erinnerte.

Bedingt durch die entgegengesetzte Richtung hinsichtlich der Affinität anion- und kationaktiver Substanzen zu Soda-abgebauter Wolle entstehen Schnittpunkte (Fig. 3); diese bilden eine Fläche (schraffierter Teil der Fig. 4), deren vier Eckpunkte durch das Zusammentreffen der Affinitätskurven je einer anionaktiven ( $HgCl_2$ , Eulan neu) mit je einer kationaktiven Substanz (Sapamin KW konz., Desogen) gekennzeichnet sind.

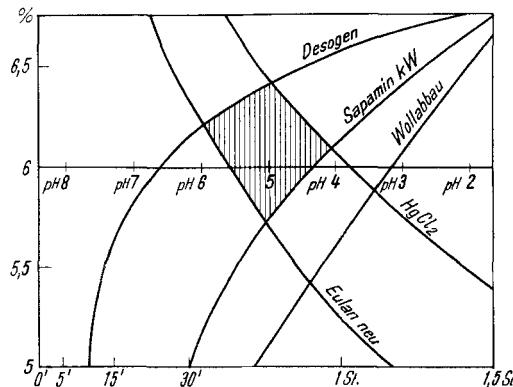


Fig. 4.  
Vergrössertes Teilstück der Figur 3.

Wir konnten nun annehmen, dass den Affinitätswerten obiger Substanzen, welche in den vier Ecken der schraffierten Schnittfläche (Fig. 4) zusammentreffen, eine besondere Bedeutung zukommt; es weisen hier ja basische und saure Substanzen die gleiche Affinität zu sodaabgebauter Wolle auf. Diese Wolle — 30—55 Minuten Abbau-stufen — ist in Gegensatz zu intaktem Wolleweiß nicht mehr mit überschüssigen, basischen Gruppen ausgestattet; sie ist „neutral“. Neutral in der 30-Minuten-Sodaabbaustufe z. B. für Desogen und Eulan neu bzw. in der 55-Minuten-Abbaustufe für Sapamin KW konz. und  $HgCl_2$ . Es galt nun, festzustellen, wie „neutral“ die den Ecken der schraffierten Fläche entsprechenden Wollabbau-Stufen sind. Daher wurden auf Grund folgender Molekulargewichte<sup>1)</sup> 0,001-n. wässrige

<sup>1)</sup> Bei den technischen Produkten haben wir die Mol.-Gew. naturgemäß nicht mit absoluter Genauigkeit errechnen können.

Lösungen der vier jeweils am Rande der schraffierten Fläche sich schneidenden Substanzen zubereitet und das pH dieser Lösungen potentiometrisch bestimmt:

|                            |           |         |                 |                  |
|----------------------------|-----------|---------|-----------------|------------------|
| Name der Substanz . . .    | Eulan neu | Desogen | $\text{HgCl}_2$ | Sapamin KW konz. |
| Mol.-Gew. . . . .          | 549,5     | 452     | 271,6           | 380              |
| pH der 0,001-n. Lösung . . | 6,35      | 5,83    | 4,24            | 3,72             |

Die pH-Werte der 0,001-n. Lösungen jener Substanzen, welche sich am Rande der schraffierten Fläche (Fig. 4) jeweils schneiden, haben wir addiert und den Mittelwert der erhaltenen Zahlen errechnet, worauf sich folgende Resultate ergaben:

| Substanzen                                    | Desogen und Eulan neu | Desogen und $\text{HgCl}_2$ | Sapamin KW konz. und $\text{HgCl}_2$ | Sapamin KW konz. und Eulan neu |
|---|-----------------------|-----------------------------|--------------------------------------|--------------------------------|
| pH-Mittelwert der 0,001-n. Lösungen . . . . . | 6,09 $\approx$ 6      | 5,03 $\approx$ 5            | 3,98 $\approx$ 4                     | 5,03 $\approx$ 5               |

Wenn wir nun diese pH-Werte den Eck-(Schnitt-)punkten der schraffierten Fläche entsprechend auf eine Gerade auftragen und im Sinne der gleichen Distanzen zwischen pH 6 sowie 5 und 4 die weiteren pH-Werte rechts und links auf dieser Geraden einsetzen (Fig. 4), erhalten wir das pH der einzelnen Sodaabbaustufen des Wolleweißes.

### III. Prognose der *Gram*-negativen Bakterizidie.

Da wir einerseits wissen, dass der isoelektrische Punkt *Gram*-negativer Bakterien bei pH = 5, jener der *Gram*-positiven bei pH = 2 liegt<sup>1)</sup>), andererseits es uns eben gelungen ist, das pH der einzelnen Sodaabbaustufen der Wolle zu bestimmen, haben wir es in der Hand, die Affinitäten unserer kation- und anionaktiven Substanzen zu 45 Minuten bzw. 86 Minuten lang abgebauter Wolle z. B. zu verfolgen; da aber diese zwei Wollabbaustufen pH-Werte aufweisen, welche den isoelektrischen Punkten der *Gram*-negativen bzw. *Gram*-positiven Bakterien entsprechen, betrachten wir sie als Bakterienmodelle. Die steigende oder sinkende Affinität einer Substanz zwischen diesen zwei Wollabbaustufen sollte mit der steigenden oder sinkenden Bakterizidie derselben Substanz gegenüber *Gram*-negativen Bakterien bezogen auf die Bakterizidie gegenüber *Gram*-positiven Bakterien korrespondieren. Es interessierte uns hauptsächlich die Möglichkeit der Pro-

<sup>1)</sup> Siehe unsere Mitteilung 1, loc. cit.

gnose der *Gram*-negativen Bakterizidie einer Substanz, da wir auf eine *Gram*-positive Bakterizidie schon vorher aus der Affinität einer Substanz zu intakter Wolle (I. Teil, Tabelle und Fig. 1) prognostisch ziemlich genaue Schlüsse ziehen konnten.

Ein Vergleich der bakteriziden Wirksamkeiten (Fig. 1, rechte Seite) mit den Figuren 3 und 4 zeigt nun folgendes Bild: Desogen und  $HgCl_2$  schneiden sich in einem hoch über  $pH = 5$  liegenden Punkt und sind auch unter den in dieser Arbeit geprüften Substanzen die bakterizid hochwirksamsten Produkte gegenüber *Gram*-negativen Bakterien. Vom Schnittpunkt dieser beiden Substanzen ausgehend, vermindert sich die Affinität von  $HgCl_2$  in Richtung  $pH = 2$  in starkem Masse, wobei seine bakterizide Wirksamkeit gegenüber *Gram*-positiven Bakterien in ebenfalls starkem Masse vermindert wird (von 1:12800 gegenüber *Gram*-negativen auf 1:600 gegenüber *Gram*-positiven Bakterien). Desogen weist von  $pH = 5$  in Richtung auf  $pH = 2$  eine stark steigende Tendenz hinsichtlich seiner Affinität auf, wobei seine bakterizide Wirksamkeit ebenfalls stark ansteigt (von 1:1600 gegenüber *Gram*-negativen auf rund 1:9600 gegenüber *Gram*-positiven Bakterien).

Es stellt sich natürlich die Frage, wieso das gegenüber *Gram*-negativen Bakterien viel wirksamere  $HgCl_2$  bei  $pH = 5$  dieselbe Affinität zu 45 Minuten lang abgebauter Wolle aufweist als das gegenüber *Gram*-negativen Bakterien weniger wirksame Desogen (siehe Schnittpunkte der beiden Substanzen in Fig. 4). Die Antwort ergibt sich aus der Tatsache, dass — wie schon bei der Korrelation der *Gram*-positiven Bakterizidie und der Affinität zu intakter Wolle (Tabelle und Fig. 1) so auch hier — anionaktive Substanzen nur unter sich und kationaktive Produkte desgleichen betrachtet werden sollen. Dies gilt im folgenden auch für die weiteren Substanzen. Die Verfolgung der *Gram*-negativen Bakterizidie von den Schnittpunkten einer anion- und einer kationaktiven Substanz ausgehend (bei  $pH = 5$ ), geschieht nur aus Anschaulichkeitsgründen.

Sapamin KW konz. und Eulan neu schneiden sich bei  $pH = 5$  tief (unter dem Schnittpunkt von Desogen und  $HgCl_2$ ) und sind unwirksam gegenüber *Gram*-negativen Erregern. Vom Schnittpunkt des Sapamin KW konz. und des Eulan neu ausgehend verläuft die Affinität des Sapamin KW konz. in Richtung auf  $pH = 2$  aufsteigend, wobei die bakterizide Wirksamkeit von 0 gegenüber *Gram*-negativen auf 1:800 gegenüber *Gram*-positiven Bakterien ansteigt. Eulan neu weist von  $pH = 5$  aus in Richtung auf  $pH = 2$  eine sinkende Tendenz hinsichtlich seiner Affinität auf, wobei feststeht, dass die bakterizide Wirksamkeit von 0 gegenüber *Gram*-negativen nicht mehr gegenüber *Gram*-positiven Bakterien weiter sinken kann. Dieses Beispiel zeigt uns die erste Grenze unserer Methode auf: bei jenen Substanzen, welche eine praktisch zu minime Bakterizidie gegenüber *Gram*-

positiven Bakterien aufweisen (unter 1:800) — wobei ja diese Bakterizidie aus der Affinität zu intakter Wolle prognostisch getestet werden kann (siehe Fig. 1) — ist die Vorhersage der bakteriziden Wirksamkeit gegenüber *Gram*-negativen Bakterien nicht möglich (genauer formuliert: ist bei diesen schwach bakteriziden Substanzen gegenüber *Gram*-positiven Bakterien die Vorhersage ihrer gegen *Gram*-negativen Bakterien gerichteten Unwirksamkeit nicht möglich).

Diese Einschränkung berührt nicht den praktischen Wert unserer prognostischen Methode, da die *Gram*-positive Bakterizidie — wie schwach sie auch sein mag — aus der Affinität zu intakter Wolle vorausgesagt werden kann. Zweitens spielt es dann für die Praxis weniger eine Rolle, wenn von einer solchen an und für sich schon zu schwach *Gram*-positiv bakteriziden Substanz nicht vorausgesagt werden kann, dass sie unwirksam ist gegen *Gram*-negativen Bakterien.

Dasselbe gilt für Mitin FF Wks., das gegenüber *Gram*-positiven Bakterien nur 1:500 (also auch unter 1:800) wirksam ist.

$\text{CuCl}_2$ , welches gegenüber *Gram*-positiven Bakterien keine abtötende Wirkung aufweist, gestattet trotzdem auf Grund des Verlaufs seiner Affinitätskurve (Fig. 3) eine Prognose hinsichtlich seiner *Gram*-negativen — wenn auch minimalen — Bakterizidie. ( $\text{CuCl}_2$  ist eben, wenn auch nur ganz gering, doch bakterizid gegen *Gram*-negativen Bakterien und die Unmöglichkeit der Voraussage bezieht sich nur auf die gegen *Gram*-negativen Bakterien gerichtete Unwirksamkeit).

Die bisherigen Resultate erlauben uns daher folgendes auszusagen: Bei kation- und anionaktiven Substanzen, deren Bakterizidie gegenüber *Gram*-negativen Bakterien mindestens 1:100, oder gegenüber *Gram*-positiven Bakterien mindestens 1:800 beträgt, kann auf Grund der steigenden oder sinkenden Affinität dieser Substanzen zu 45 Minuten Sodaabgebauter Wolle, bezogen auf 86 Minuten Sodaabgebauter Wolle: die steigende oder sinkende Bakterizidie gegenüber *Gram*-negativen Bakterien bezogen auf die *Gram*-positive Bakterizidie dieser Substanz prognostisch getestet werden.

#### IV. Experimenteller Teil.

##### Technik der Affinitätsbestimmung.

1. *Einwaage der Wolle*. Nichtchlorierte, ungebleichte und gewaschene Strickwolle<sup>1)</sup> wird so zugeschnitten und auf einer automatischen Analysen-, z. B. „Mettler“-Waage gewogen, dass Wollstränge resultieren, die ein Gewicht zwischen 1,040—1,100 g aufweisen.

Dieses Gewicht ist zweckmäßig, da die bei jeder Serienbestimmung mitgeführten Blindproben (2 Stück innerhalb eines 10er Ansatzes) welche nur mit Leitungswasser — also ohne Substanzzusatz — 10 Minuten bei 90° behandelt werden, einen durch Wollhydrolyse entstandenen Gewichtsverlust von 35—40 mg aufweisen. Es ist aber — wie

<sup>1)</sup> Ursprung: *Wollgarn AG*, Zürich; Bezeichnung: Roh, Qual. C, 14/5.

später ersichtlich – wünschenswert, die Affinitätsbestimmungen mit Wollsträngen vorzunehmen, welche nicht leichter wie 1,000 g sind.

2. *Markierung der Wollstränge.* Die eingewogenen Wollstränge werden mit gleichlangen bzw. gleich schweren unbehandelten Baumwollfäden durch verschiedene Knotenzahl markiert und in notierter Reihenfolge in einen Exsikkator nebeneinander gelegt.

Das direkte Markieren der Wolle durch Knoten würde nachher ungleichmässige Aufzieh(Affinitäts)verhältnisse schaffen.

3. *Trocknen der gewogenen und markierten Wollstränge.* In Exsikkatoren von ca. 20 cm Durchmesser und mit gleicher  $\text{CaCl}_2$ -Menge werden nicht mehr wie 10 Stränge (also eine Serie) versorgt.

Falls mehr als 10 Stränge pro Exsikkator versorgt würden, resultierte später auch ein mehr wie 10faches Öffnen des Exsikkators und damit eine erhöhte Feuchtigkeitsaufnahme der Wolle; um so mehr, da beim nachträglichen Wägen zur Feststellung der Affinität von Substanzen zu Wolle eine Regulierung der 0,1-Skala der „Mettler“-Waage erforderlich ist, welche Handlung das Einhalten gleich langer Wägezeiten verunmöglicht. Falls die 0,1-Skala nicht gebraucht und direkte Ablesungen möglich sind, beträgt die Wägedauer pro Wollstrang 20 Sekunden.

Jede 10 Stränge enthaltende Wollserie soll ausser den oben erwähnten 2 Blindproben noch eine Kontrolle, d. h. einen eingewogenen Wollstrang enthalten, welcher gar keine Behandlung durchmacht und nur zur Kontrolle der Gewichtskonstanz dient. Die Exsikkatoren müssen an einem temperaturkonstanten Ort minimum 48 Stunden aufbewahrt werden, d. h. so lange, bis der unbehandelte Kontrollstrang Gewichtskonstanz aufweist.

4. *Affinitäts(Aufzieh)versuch.* Eine 10er-Wollstrang-Serie (wovon 2 Blindproben und 1 Kontrolle, also 7 Stränge für direkte Affinitätsbestimmungen) benötigt 10 Bechergläser, welche nun einzeln folgendermassen beschickt werden: a) mit der zu prüfenden Substanz in einer Menge, welche 20% des dazugehörigen Wollstranggewichtes ausmacht, z. B. im Falle eines 1,000 g schweren Wollstranges 0,200 g Substanz; b) mit der 50fachen Menge Leitungswasser, ebenfalls auf das Gewicht des dazugehörigen Wollstranges berechnet, z. B. im Falle eines 1,000 g schweren Wollstranges 50 g Wasser.

Leitungswasser muss genommen werden, da destilliertes Wasser 56 mg pro 1,000 g Wolle in 10 Minuten bei  $90^\circ$  abhydrolysiert und auch die Affinitätswerte im Aufziehversuch niedriger ausfallen, wenn man destilliertes Wasser nimmt (Fehlen des Salzeffektes).

Nun werden die den Wollsträngen entsprechend numerierten Bechergläser – in einem Wasser- oder Glyzerinbad – gleichzeitig auf  $90^\circ$  aufgeheizt (ungleichmässiges Erwärmen, ungleiche Verdunstung: ungleiche Affinitätswerte!). Anschliessend werden dann die aus dem Exsikkator in der Wägungsreihenfolge herausgenommenen und in heissem Wasser kurz vorgenetzten – und wieder ausgequetschten – Wollstränge innert gleichen Sekundenabständen mit einer Pinzette in die entsprechenden Bechergläser gelegt. Nun soll sofort in jedem Becherglas mit einem Glasstab gerührt und das Rühren – im Verlaufe der 10-Minuten-Behandlungsdauer – in der 4. und 8. Minute wiederholt werden. Die Bechergläser sind während der 10-Minuten-Reaktionszeit mit je einem Uhrglas bedeckt.

Nach 10 Minuten werden die Wollstränge aus den Bechergläsern in den gleichen Sekundenabständen – wie beim Hineinlegen – herausgenommen und zur sofortigen Unterbrechung der Reaktion in einen 5 l kaltes Wasser fassenden Stutzen getan.

Dann wird 5mal mit je 1 l  $70^\circ$  heissem und dann ebenso oft mit kaltem Leitungswasser gespült (eine 10er-Serie gleichzeitig), ausgequetscht und an der Luft staubfrei vorgetrocknet<sup>1)</sup>. Nun werden die Stränge im ursprünglichen Exsikkator in der durch die Markierung festgelegten Reihenfolge versorgt.

<sup>1)</sup> Bei ca.  $70^\circ$ , bis die 2 Blindproben, d. h. jene Wollstränge der Serie, welche nur mit Wasser behandelt wurden, dasselbe Gewicht aufweisen wie der unbehandelte Kontrollstrang.

Es versteht sich von selbst, dass während der Dauer des Affinitätsversuches der unbehandelte Kontrollstrang nicht im Exsikkator, sondern an der Luft sich befinden muss.

5. *Trocknen der Wollstränge* siehe oben (Abschnitt 3).

6. *Wägung der Wollstränge* in der ursprünglichen Reihenfolge<sup>1)</sup>.

#### Technik des Sodaabbaues der Wolle.

Wir haben Wollstränge (entsprechend den Abschnitten 1., 2. und 3. der Technik der Affinitätsbestimmung) gewogen, markiert und vorgetrocknet und sie dann 0, 5, 15, 30, 60, 120 und 240 Minuten lang mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (0,15-n.) in 50facher Menge der  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung – bezogen auf das Wollgewicht – also in einer Flotte 1:50 bei 80° abgebaut. Während des Abbaus der Wollstränge in mit Uhrgläsern verschlossenen Bechergläsern wurde gelegentlich gerührt; bei den 60-, 120- und 240-Minuten-Abbaustufen allerdings in nicht so kurzen Zeitabständen wie bei den 0-, 5-, 15- und 30-Minuten-Abbaustufen, um mechanische Schädigungen der Wolle nach Möglichkeit zu vermeiden.

Die Wollstränge wurden dann in einen 5 l kaltes Wasser fassenden Stutzen gebracht und anschliessend gesamthaft 10mal mit je 1 l kalten Leitungswassers gespült, abgequetscht und an der Luft staubfrei vorgetrocknet. Die nachherige Trocknung im Exsikkator gestaltete sich im Sinne des Abschnittes 3 der Technik der Affinitätsbestimmung, worauf dann die Wägung der Stränge bis zur Gewichtskonstanz folgte (Gewichtskonstanz bezogen auf den 0-Minuten-Strang).

Wir danken Herrn Dr. Dr. h. c. *P. Läuger* und Herrn Dr. *K. Menzi*, Basel, bestens für die kritische Wertung der Wollabbautheorie, Herrn Prof. *T. Reichstein* für die Überlassung der „*Mettler*“-Waage der Organisch-chemischen Anstalt der Universität Basel sowie der *Geigy* und *Ciba AG*, Basel, für die technischen Produkte.

#### Zusammenfassung.

An Hand von 18 chemisch verschiedenen Substanzen der anion- und kationaktiven sowie nichtionogenen Reihe – unter Berücksichtigung unserer beiden vorangegangenen Arbeiten – wird mit Hilfe einer serienmäßig leicht reproduzierbaren Methode, gesondert innerhalb der kation- bzw. anionaktiven Reihe, folgendes nachgewiesen:

1. Die graduell ansteigende Affinität von Substanzen zu Wolle (aus neutraler wässriger Lösung bei 90° in 10 Minuten) geht mit einer ebenfalls ansteigenden bakteriziden Wirkung derselben Substanzen gegenüber *Gram*-positiven Bakterien parallel.

2. Durch systematischen sodaalkalischen Abbau der Wolle (bei 80° mit 0,15-n.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) können Wolleweiß-Stufen dargestellt werden, deren pH-Werte den isoelektrischen Punkten von *Gram*-negativen bzw. von *Gram*-positiven Bakterien entsprechen.

3. Auf Grund des Vergleichs der Affinitätswerte von Substanzen zu den zwei erwähnten Wollabbaustufen ist es prinzipiell möglich, auch die *Gram*-negative Bakterizidie prognostisch zu testen.

<sup>1)</sup> Da die verschiedenen Wollsorten des Handels nicht in jeder Beziehung identisch sind, kann eine Reproduktion unserer Affinitätsbestimmungen unter Umständen ergeben, dass die erhaltenen Werte nicht mit mathematischer Genauigkeit unseren Werten entsprechen; jedenfalls werden aber, und dies scheint uns wesentlicher, die Relationen der Affinitätswerte genau reproduzierbar sein.

4. Die beschriebenen Gesetzmässigkeiten ermöglichen mit Hilfe der mitgeteilten Mikromethode der Affinitätsbestimmung zu Wolle (0,2 g Substanz pro 1 g Wolle) die genaue prognostische Testung der *Gram*-positiven Bakterizidie beliebiger wasserlöslicher, thermostabiler Substanzen sowie ihrer approximativen *Gram*-negativen Bakterizidie, falls letztere mindestens 1:100 beträgt.

5. Damit wird zum ersten Male eine Methode der Bestimmung der Bakterizidie mitgeteilt, welche keine Bakterien, Nährböden, Brutschrank und Überimpfungen, sondern praktisch nur 1 g Wollstränge, Wasserbad, Waage und Exsikkator benötigt.

6. Bei Substanzen, von denen man nicht weiss, ob ihre antibakterielle Wirkung sich partiell aus einer bakteriziden und einer bakteriostatischen Komponente zusammensetzt, kann die hier mitgeteilte Methodik die Grössenordnung der Bakterizidie ermitteln.

7. Nichtionogene Substanzen weisen — auf Grund unserer bisherigen Affinitätsversuche zu Wolle — prinzipiell keine bakterizide Wirkung auf, können aber gegebenenfalls bakteriostatisch wirksam sein.

8. Bei der Suche nach antibakteriell wirksamen Produkten gestattet die mitgeteilte Methode eine engere Wahl jener Substanzen zu treffen, deren nachherige ausführliche bakteriologische Prüfung lohnenswert ist.

Hygienische Anstalt der Universität Basel.

## 23. Die Kristallstruktur von Chinuclidinium-halogeniden

von H. Auerswald, Hs. H. Günthard und W. Epprecht.

(15. XII. 50.)

In einer Untersuchung über die Kristallstruktur des Chinuclidins (I) hat W. Nowacki<sup>1)</sup> gezeigt, dass diese Substanz bei Zimmer-temperatur als isotrope Modifikation kristallisiert. Die Debye-Scherrer-Diagramme waren linienarm, kubisch indizierbar und wiesen auf ein flächenzentriertes Gitter hin, in welchem die Moleküle entweder freie Rotation besitzen oder eine statistische Verteilung der 3zähligen

<sup>1)</sup> W. Nowacki, Helv. **29**, 1798 (1946).