

Im Gegensatz zu dem bisher angewandten Verfahren zur papierchromatographischen Abtrennung des Aldosterons von den übrigen Corticosteroiden, bei dem die Trennung von ähnlich polaren Steroiden, wie z. B. Cortison, nur nach 2- bis 3maliger Chromatographie gelingt<sup>8, 9</sup>) benutzen wir ein inverses System<sup>7).</sup>

In diesem System hat das Aldosteron einen  $R_F$ -Wert von 0,60. Wird das Aldosteron im Gemisch mit den anderen 6 Corticosteroiden aufgetragen, so trennt es sich schon bei einmaliger Chromatographie glatt von diesen. Die dem Aldosteron zunächst liegenden Substanzen 11-Dehydro-17-oxy-corticosteron und 17-Oxy-corticosteron haben einen  $R_F$ -Wert von 0,47 und 0,48. Wir bestimmen im allgemeinen nicht den  $R_F$ -Wert, sondern den  $R_x$ -Wert, den wir auf Cortison = 0,50 bzw. Desoxycorticosteron = 0,10 beziehen. Man ist so unabhängig von äußeren Einflüssen (Ungleichmäßigkeiten im Papier, Temperatur u.a.m.). Der  $R_x$ -Wert des Aldosterons beträgt dann 0,63.

Zweifellos genügt zur Identifizierung einer Substanz der  $R_F$ -Wert allein nicht. Als weiteres Kriterium kann das UV-Spektrum, das bereits von Simpson, Wettstein, Reichstein u. a. angegeben wurde, dienen<sup>6).</sup> Ferner ist das Reduktionsvermögen gegenüber einer alkalischen TTC-Lösung bei den hier in Frage kommenden Stoffen charakteristisch für das Vorhandensein einer  $\alpha$ -Ketoalkohol-Gruppierung an den C-Atomen 20 und 21. Außerdem kann noch die Fluoreszenz unter der Analysenquarzlampe nach alkalischer Behandlung nach Bush<sup>8)</sup> herangezogen werden.

Auf Grund des Reaktionsvermögens oder der Liechtsorption bei 240  $\mu\text{m}$  läßt sich der dem Aldosteron zuzuordnende Fleck in Nebennierenextrakten nach dem Eluieren mit Methylglykol oder Methanol auch quantitativ bestimmen<sup>7).</sup>

Papierchromatogrammen von Corticosteroiden

1. Corticosteroid-Gemisch, bestehend aus 25  $\gamma$  Desoxycorticosteron (Doc.), 25  $\gamma$  Substanz S, 25  $\gamma$  Corticosteron (B), 25  $\gamma$  Cortison (E) und 10–20  $\gamma$  Aldosteron (Ald.).
2. Nebennierenextrakt mit höherpolaren Steroiden I, II, III. I = Aldosteron. F = 17-Oxycorticosteron.
3. Nebennierenextrakt ohne höherpolare Steroide (Spur I = Aldosteron)

Papierchromatogrammen von Corticosteroiden

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Unterstützung dieser Arbeiten sehr.

Eingeg. am 15. Okt. 1954 [Z 135]

## Über den Wirkungsmechanismus der p-Aminosalicylsäure

Stoffwechseluntersuchungen bei Mikroorganismen mit Hilfe radioaktiver Isotope. IX. Mittell.

Von Doz. Dr. ADOLF WACKER, Dr. H. GRISEBACH, Dipl.-Chem. A. TREBST, MARIA EBERT und Prof. Dr. FRIEDRICH WEYGAND

Aus dem Chemischen Institut der Universität Tübingen

J. Lehmann berichtete 1946 über die Hemmung des Wachstums von Tuberkelbazillen durch p-Aminosalicylsäure (PAS)<sup>9).</sup> Wenig später zeigten verschiedene Forschergruppen, daß

- p-Aminobenzoësäure (PAB) die PAS-Hemmung<sup>10)</sup> und
- b) PAS die Sulfonamid-Hemmung<sup>11)</sup> aufhebt.

Obwohl man aus diesen Befunden hätte schließen können, daß der Wirkungsmechanismus der PAS ähnlich dem der Sulfonamide

<sup>7)</sup> H. Schmidt u. H. Staudinger, Biochem. Z. 324, 128 [1953].

<sup>8)</sup> I. E. Bush, Biochem. J. 50, 370 [1952].

<sup>9)</sup> J. Lehmann, Lancet 250, 14 [1946].

<sup>10)</sup> G. P. Youmans, G. W. Raleigh u. A. S. Youmans, J. Bacteriol. 54, 409 [1947]. J. Vonkennel, P. P. Koelzer u. J. Giesen, Med. Mschr. 1949, 499.

<sup>11)</sup> P. P. Koelzer u. J. Giesen, Naturwissenschaften 37, 476 [1950].

ist, hielten verschiedene Arbeitskreise<sup>12)</sup> dies für unwahrscheinlich. Im Rahmen unserer Arbeiten über den Stoffwechsel der PAB-<sup>14</sup>C und der Folsäure-<sup>14</sup>C haben wir uns nunmehr auch mit dem der PAS-<sup>14</sup>C beschäftigt.

### Synthese der p-Aminosalicylsäure-[carboxyl-<sup>14</sup>C]

1. 2-Methoxy-4-nitro-benzonitril-[nitril-<sup>14</sup>C]: Die Diazoniumsalzlösung aus 1,2 g (6,75 mMol) 5-Nitro-2-amino-anisol wurde mit Calciumcarbonat neutralisiert, filtriert und zu einer 40° warmen Lösung von 325 mg  $K^{14}CN$  (5 mMol, 3,6 mC) und 150 mg CuCN (1,67 mMol) in 10 cm<sup>3</sup> Wasser gegeben. Nach einer Stunde bei 40° wurde das entstandene Nitril abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Es wurde in Benzol gelöst, an Aluminiumoxyd zur Reinigung chromatographiert und aus Aceton/Wasser umkristallisiert.  $F_p$  178 °C, Ausb. 995 mg (84 % d.Th., ber. auf  $K^{14}CN + CuCN$ ).  $C_8H_8O_2N_4$  (178,1) Ber.: C 53,93; H 3,40; N 15,73; Gef.: C 53,99; H 3,35; N 15,70 (Analyse von nicht-radioaktivem Material).

2. 4-Nitrosalicylsäure-[carboxyl-<sup>14</sup>C]: 995 mg Nitril wurden 6 h in 16 cm<sup>3</sup> Eisessig und 22 cm<sup>3</sup> konstant siedender Bromwasserstoff-säure unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die nach dem Abkühlen auskristallisierte 4-Nitrosalicylsäure wurde abgesaugt und mit wenig Eisessig gewaschen.  $F_p$  230–234 °C. Ausb. 620 mg (60 % d.Th.), Reinigung durch Sublimation im Ölumpenvakuum, Badtemperatur 160 °C.

3. 4-Aminosalicylsäure-[carboxyl-<sup>14</sup>C]: 4-Nitrosalicylsäure wurde in Alkohol mit  $H_2$  und  $PtO_2$  reduziert. Ausb. 500 mg (49 % d.Th., ber. auf  $K^{14}CN + CuCN$ ),  $F_p$  149 °C. Nach der papierchromatographischen Analyse enthielt die Verbindung keine radioaktive Verunreinigung. Farbreaktion mit essigsaurer o-Diacetylbenzol-Lösung: blau.

Züchtung der Bakterien: Herkunft und Züchtung von *Enterococcus Stei* sowie Zusammensetzung des Nährmediums s.<sup>13)</sup>. Das Medium enthielt keine PAB. Aufarbeitung der Bakterien und Lösungsmittel für die Papierchromatographie s.<sup>14)</sup>.

### Ergebnisse

Wie wir bei *Enterococcus Stei* fanden<sup>15)</sup>, läßt sich bei diesem Bakterium die PAS-Hemmung (16  $\gamma/cm^2$ ) mit Formyl-folsäure (1,6  $\text{m}\gamma/cm^2$ ), Tetrahydro-formyl-folsäure (1,6  $\text{m}\gamma/cm^2$ ) oder Thymin (1,6  $\text{m}\gamma/cm^2$ ) nichtkompetitiv aufheben, dagegen ist die Folsäure unwirksam, ja in höheren Konzentrationen (16  $\text{m}\gamma/cm^2$ ) verstärkt sie sogar die PAS-Hemmung. 5-Brom-uracil, ein Antagonist des Thymins, verstärkt ebenfalls die PAS-Hemmung bei *Enterococcus Stei*.

Nach dem Wachstum von *Enterococcus Stei* in Gegenwart von

- PAS-<sup>14</sup>C (10  $\text{m}\gamma/cm^2$ ) oder

2. Sulfathiazol (1  $\text{m}\gamma/cm^2$ ) + PAS-<sup>14</sup>C (10  $\text{m}\gamma/cm^2$ )

(mit Sulfathiazol allein wäre das Wachstum vollständig gehemmt) konnten wir in beiden Versuchen aus den Bakterien papierchromatographisch eine radioaktive Substanz isolieren, die für *Leuconostoc citrovorum* 8081 ein Wuchsstoff ist, dagegen nicht für *Streptococcus faecalis R*. Auf Grund der Radioaktivität, der mikrobiologischen Aktivität und den  $R_F$ -Werten in verschiedenen Lösungsmittelsystemen<sup>14)</sup> schließen wir, daß die isolierte Verbindung eine hydrierte und in 7-Stellung (nach US-Nomenklatur: 5-Stellung) formyierte Folsäure-Verbindung mit PAS an Stelle von PAB ist. Die neue Verbindung hat ähnliche  $R_F$ -Werte wie die aus PAB-<sup>14</sup>C durch *Enterococcus Stei* gebildete Verbindung<sup>14)</sup>. Daß die aus PAS-<sup>14</sup>C entstandene wuchsstoffaktive und radioaktive Verbindung ein Pteridin-Akkomeling ist, zeigten Abbauversuche. Nach Elution des Fleckens wurde 30 min in 1 n-HCl bei 100° gehalten, sodann ammoniakalisch mit Permanganat in der Hitze oxydiert und der Permanganat-Überschuß mit Alkohol zerstört. Dabei bildete sich die 2-Amino-6-oxy-pteridin-carbonsäure-8, die papierchromatographisch nachgewiesen wurde<sup>16)</sup>.

Neben der radioaktiven und gleichzeitig für *Leuconostoc citrovorum* 8081 aktiven Substanz fanden wir in Versuch 1) papierchromatographisch noch in kleiner Menge eine weitere radioaktive Verbindung, die aber keine Wuchsstoffaktivität bei *Leuconostoc citrovorum* 8081 oder *Streptococcus faecalis R* besitzt.

### Diskussion

Wie schon die Hemm- und Enthemm-Versuche mit den Folsäure-Verbindungen zeigen, läßt sich der Wirkungsmechanismus der PAS ähnlich dem der Sulfonamide erklären. Die für den Aufbau des Coenzyms F<sup>14)</sup> unbedingt notwendige PAB wird durch die in ihrer Struktur der PAB ähnliche PAS verdrängt. Dadurch kommt es zu einer Hemmung des Bakterienwachstums, die aber bei unseren Versuchen, auch bei größten Konzentrationen an

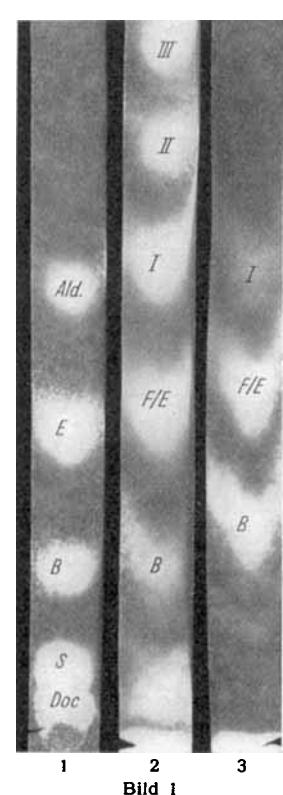
<sup>12)</sup> D. Yegian u. R. T. Long, J. Bacteriol. 61, 747 [1951]. N. L. Edson, Bact. Rev. 15, 176 [1951]. A. Albert, Abstr. of Papers, VIth Int. Congress of Microbiology, Rom 1953, Symposium on Growth Inhibition and Chemotherapy, S. 10–18.

<sup>13)</sup> E. F. Möller, F. Weygand u. A. Wacker, Z. Naturforsch. 4b, 92 [1949].

<sup>14)</sup> A. Wacker, H. Grisebach, A. Trebst u. F. Weygand, diese Ztschr. 66, 326 [1954].

<sup>15)</sup> Bei *Enterococcus Stei* kann man die Sulfonamid-Hemmung nichtkompetitiv mit allen Folsäure-Verbindungen und Thymin aufheben.

<sup>16)</sup> F. Weygand, A. Wacker u. V. Schmid-Kowarzik, Experientia [Basel] 6, 184 [1950]. Außer dem dort angegebenen Lösungsmittelgemisch wurden die bereits zitierten<sup>6)</sup> verwendet.



PAS, nie vollständig war. Diese PAS-Hemmung kann man nun in kompetitiver Weise durch PAB aufheben oder nichtkompetitiv durch die aus der PAB entstehenden Stoffwechselprodukte, nämlich die Folsäure-Verbindungen und letztlich auch durch Thymin, der Verbindung, für deren Biosynthese Coenzym F notwendig ist<sup>17</sup>). Auf den Befund, daß die Folsäure selbst die PAS-Hemmung nicht aufhebt, soll in einer späteren Mitteilung eingegangen werden. Es liegt hier vielleicht eine Parallel zu dem Ergebnis vor, daß das „PAS-Coenzym F“ kein Wuchsstoff für *Streptococcus faecalis R* ist.

Wird nun *Enterococcus Stet* in seinem Wachstum vollständig durch Sulfathiazol gehemmt und steht aber dem Bakterium gleichzeitig PAS zur Verfügung, so verwendet es notgedrungen PAS zum Aufbau des Coenzymes F, das nun aber PAS an Stelle von PAB enthält. Die Versuche mit PAS-<sup>14</sup>C bestätigen dies, indem ein „PAS-Coenzym F“ isoliert wurde, das sich in den oben erwähnten Eigenschaften von dem eigentlichen Coenzym F unterscheidet. Dieses „PAS-Coenzym F“ wird ebenfalls gebildet, wenn *Enterococcus Stet* mit einer Menge PAS wächst, die das Wachstum merklich verringert.

<sup>17)</sup> Z. Naturforsch., im Druck.

Die Versuche zur Enthemmung von PAS mit den Folsäure-Verbindungen und Thymin sowie die Versuche mit PAS-<sup>14</sup>C zeigen eindeutig, daß die PAS in den Folsäure-Stoffwechsel eingreift und somit eine Analogie zum Wirkungsmechanismus der Sulfonamide vorliegt. Dafür sprechen auch Hemmversuche mit PAS bei *Streptococcus faecalis R* und *Leuconostoc citrovorum 8081*, wobei sich zeigte, daß man diese Stämme mit PAS nicht hemmen kann, wie dies auch mit Sulfonamiden nicht möglich ist, weil sie aus PAB keine Folsäure aufbauen können.

Ein weiteres Beispiel dafür, daß ein Hemmstoff auch als Enthemmstoff dienen kann, fanden wir bei 5-Brom-uracil und 5-Nitro-uracil, die beide Antagonisten des Thymins sind. 5-Brom-uracil hebt die Hemmung durch 5-Nitro-uracil auf und wird dabei an Stelle des Thymins in die Desoxy-ribonucleinsäure eingebaut<sup>18</sup>).

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Verband der Chemischen Industrie — Fonds der Chemie — danken wir bestens für die Unterstützung dieser Arbeit.

Eintrag am 23. Okt. 1954 [Z 134]

<sup>18)</sup> F. Weygand u. A. Wacker, Z. Naturforsch. 7b, 26 [1952]; A. Wacker, A. Trebst, D. Jacherts u. F. Weygand, Z. Naturforsch. 9b, 616 [1954].

## Versammlungsberichte

### Internationale Union für Reine und Angewandte Chemie

Sektion für Anorganische Chemie

2. bis 6. September 1954 in Münster

Die Vorträge der Tagung, über deren äußeren Ablauf im Sonderdienst zu dieser Zeitschrift 2, 221 [1954], berichtet wird, waren wie folgt gegliedert:

- 1.) Vorträge über Silicium
- 2.) Vorträge über Schwefel
- 3.) Vorträge über Phosphate
- 4.) Vorträge über Metaphosphate.

#### Silicium

M. DODERO, Grenoble: *Le Silicium et les Siliciures Electrolytiques*.

Silicate und Mischungen der Silicate lassen sich bei hohen Temperaturen (1250 °C) in der Schmelze elektrolytieren. An der Kathode entsteht amorphes oder kristallisiertes Si, wenn K- oder Na- bzw. Mg- oder Al-Silicate elektrolysiert werden. Von Li-, Ca-, Ba-, Sr-Silicaten ausgehend, erhält man die entsprechenden Silicide oder Si-Legierungen. Silicide von Ti, Zr, Th, Cr, Ce, La lassen sich gewinnen, wenn man der Schmelze die entsprechenden Fluzyde zusetzt. Der Zusatz von Fluosilicaten ist zweitens vorteilhaft. Die Bildung der Silicide, der Si-Legierungen und des freien Si läßt sich folgendermaßen erklären: an der Kathode werden z. B. Ca-Ionen entladen, die SiO<sub>2</sub> zu elementarem Si reduzieren. Dieses scheidet sich entweder ab oder vereinigt sich mit weiterem Ca zu einem Silicid oder einer Si-Legierung.

J. A. LELY, Eindhoven: *Darstellung von Einkristallen von Siliciumcarbid und Beherrschung von Art und Menge der im Gitter eingebauten Verunreinigungen*.

Bei 2500–2600 °C liegt der Dampfdruck von SiC zwischen 10 und 50 mm. Es dissoziert dabei zu Graphit und gasförmigem Si. Diese Temperatur ist günstig, um durch Sublimation beim Gleichgewichtsdampfdruck in einem besonders konstruierten Ofen SiC-Einkristalle ohne Graphitverunreinigung zu züchten. Die etwa 6-stündige Erhitzung auf 2500 °C findet in einem Graphitrohr nach Kroll statt. Fremdatome aus der dritten und fünften Hauptgruppe des Periodensystems können bis zu 0,1 Atom % in das SiC-Gitter eingebaut werden. Die sonst farblosen Kristalle erhalten durch die Elemente der 5. Gruppe grüne Färbung und zeigen Elektronen-überschlußleitung. Durch Elemente der 3. Gruppe werden die Kristalle blau gefärbt und zeigen Defektleitung.

Die gewünschten Verunreinigungen können in fester Form als schwerflüchtige Verbindungen (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, (NaPO<sub>3</sub>)<sub>x</sub>) zum Sublimationsgut gegeben werden. Dann kann man jedoch die Konzentration der Fremdatome in der Gasphase und damit im Kristall nicht regeln. Besser ist es, die Verunreinigungen als Gase (z. B. in Form ihrer flüchtigen Chloride) dem Schutzgas im Ofen zuzusetzen. Man kann auf diesem Wege die Konzentration der Fremd-

atome in den SiC-Einkristallen zwischen 10<sup>-5</sup> und 10<sup>-1</sup> Atom % variieren. Diese Konzentrationen sind bei elektrischen Untersuchungen der Einkristalle besonders interessant.

HARALD SCHÄFER, Münster: *Niedere Silicium-Halogene bei hohen Temperaturen*.

Bei 1100–1300 °C stehen SiCl<sub>4</sub> und Si im Gleichgewicht mit gasförmigem monomolekularem SiCl<sub>2</sub>, das auch spektroskopisch nachgewiesen werden konnte. Andere Silicium-chloride konnten nicht festgestellt werden. Beim Abschrecken des Gleichgewichtsgases, das SiCl<sub>4</sub> und SiCl<sub>2</sub> enthält, entsteht eine Mischung von höheren Si-Chloriden mit niederen Oxydationsstufen. Bei langsamer Abkühlung disproportioniert SiCl<sub>2</sub>, und in Umkehrung der Reaktion, die SiCl<sub>2</sub> liefert hat, bilden sich elementares Si und SiCl<sub>4</sub>. Auf Grund dieser Reaktion läßt sich im Labormaßstab sehr reines Si aus technischen Si-Proben darstellen. Das Subbromid reagiert ebenso, doch ist es am vorteilhaftesten, das Si über das SiJ<sub>2</sub> zu reinigen, wobei bestimmte SiJ<sub>4</sub>-Drücke einzuhalten sind. Ein Ansatz liefert in 10 h etwa 3 g reines Si. Dieses Verfahren ist um so wertvoller, da die Methode von van Arkel/de Boer beim Si versagt. Enthält das Rohsilicium Si-Oxyde, so hinterbleibt das SiO<sub>2</sub>, (nach Entfernen des elementaren Si) in Faserform, das auch durch Oxydation von SiO erhalten werden kann.

M. SCHMEISSE, München: *Niedere Silicium-fluoride und -bromide sowie deren Derivate*.

Durch Umsetzung von gemischten Silicium-brom-fluoriden wie SiFBr<sub>3</sub> und SiF<sub>2</sub>Br<sub>2</sub> mit Magnesium in Äther-Lösung gelang es, Siliciumsubfluoride der Zusammensetzung [SiF]<sub>x</sub> bzw. [SiF<sub>2</sub>]<sub>x</sub> als feste hochpolymere Substanzen darzustellen.

Siliciumsubfluoride konnten auch aus Siliciumsubchloriden, wie Si<sub>10</sub>Cl<sub>22</sub>, und Subbromiden, wie [SiBr]<sub>x</sub> und Si<sub>10</sub>Br<sub>18</sub>, durch Umsetzen mit ZnF<sub>2</sub> erhalten werden. Andere Fluorierungsmittel (z. B. SbF<sub>3</sub>, AgF<sub>2</sub>, AgF, AsF<sub>3</sub>) reagierten unter Bildung von SiF<sub>4</sub> und Reduktion der angewandten Fluoride zum entspr. Element.

Siliciumsubbromide konnten einerseits durch Reduktion von SiBr<sub>4</sub> in Ätherlösung mit Magnesium in Form des gelben, festen [SiBr]<sub>x</sub> dargestellt werden, zum anderen durch Einwirkung von SiBr<sub>4</sub> auf Silicium bei etwa 1150 °C, wobei neben [SiBr]<sub>x</sub> auch Si<sub>2</sub>Br<sub>6</sub> und verschiedene Subbromide — u. a. Si<sub>10</sub>Br<sub>18</sub> — erhalten wurden.

Die Siliciumsubbromide konnten mit Wasser unter vorsichtigen Bedingungen zu Subkieselsäuren, mit Grignard-Verbindungen zu Silicium-subalkylen (z. B. Si<sub>10</sub>Br<sub>18</sub> zu Si<sub>10</sub>(CH<sub>3</sub>)<sub>10</sub>) und mit Alkoholen zu Subkieselsäureestern umgesetzt werden. Mit Ammoniak entstanden unter teilweiser Aufspaltung der Si—Si-Bindungen niedermolekulare Silicium-subamide; Pyridin und andere organische Amine, wie N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, gaben definierte Anlagerungsverbindungen.