

Man weiß heute, daß die Depression des Schmelzpunktes bei Lösungen von Substanzen hohen Molekulargewichts von der Konzentration abhängt. Verfügt man über mehrere Werte, so kommt man dem richtigen am nächsten, wenn man geradlinig auf die Konzentration Null extrapoliert. Nach dem Verfahren der kleinsten Fehlerquadratsumme ergibt sich als Molekulargewicht bei der Konzentration Null der Wert 3727, also wesentlich höher als der damals eingesetzte Mittelwert. Das gefundene Molekulargewicht liegt bei dieser Berechnung um 7,4 % unter dem erwarteten. Der Versuch ist demnach günstiger verlaufen als die Autoren damals annehmen konnten.

Eingegangen am 27. März 1957 [Z 447]

Herstellung makrocyclischer Diamide

Von Prof. Dr. H. STETTER
und Dipl.-Chem. JOACHIM MARX

Institut für Organische Chemie der Universität München
und Chemisches Institut der Universität Bonn

Die ersten makrocyclischen Verbindungen, die nach dem Verdünnungsprinzip hergestellt wurden, waren makrocyclische Diamide der aromatischen Reihe, die P. Ruggli¹⁾ durch Kondensation von Diamino-tolanen mit Dicarbonsäure-dichloriden erhielt. Es ist erstaunlich, daß diese Kondensationsreaktion später nicht mehr für die Herstellung makrocyclischer Verbindungen herangezogen wurde, obwohl die Amid-Bildung aus Säurechlorid und Amin fast ideal die Anforderungen erfüllt, die an Cyclisierungsreaktionen beim Arbeiten nach dem Ruggli-Zieglerschen Verdünnungsprinzip gestellt werden müssen²⁾. Diese Anforderungen werden sowohl im Hinblick auf die hohe Reaktionsgeschwindigkeit als auch im Hinblick auf den eindeutigen und vollständigen Reaktionsablauf voll erfüllt. Demgegenüber fällt der Nachteil, daß die Ringbildung aus zwei Teilstücken nicht mehr konzentrationsunabhängig ist, kaum ins Gewicht.

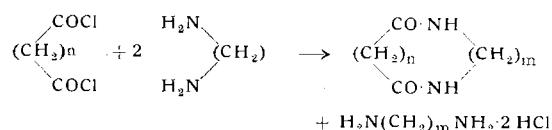
Diese Cyclisierungsreaktion wurde von uns für die Herstellung makrocyclischer Diamide ausgehend von aliphatischen Dicarbonsäure-dichloriden und Diaminen herangezogen. Eine Verbindung des zu erwartenden Typs, das 1,8-Diaza-2,7-dioxo-cyclotetradecan, wurde vor kurzem als Nebenprodukt der Nylon-Herstellung in geringer Menge (1,2 %) isoliert³⁾.

Ein besonderes Problem bei der Anwendung des Verdünnungsprinzips bildet der kontinuierliche Zulauf von äquimolekularen Mengen der Diamin- und Dicarbonsäuredichlorid-Lösung aus zwei Tropftrichtern in das Reaktionsgefäß. Verwendet wurden Tropftrichter besonderer Konstruktion, die nach dem Mariotteschen Prinzip arbeiten, und bei denen die Tropfgeschwindigkeit demzufolge von der Niveauhöhe unabhängig ist.

¹⁾ Liebigs Ann. Chem. 392, 92 [1912]; 399, 174 [1913]; 412, 1 [1917].
²⁾ K. Ziegler in *Houben-Weyl*: Meth. der organ. Chemie, Bd. 4/2, 738 [1955].

³⁾ H. Zahn, P. Rathgeber, E. Rexroth, R. Krzikalla, W. Lauer, P. Miro, H. Spoor, F. Schmidt, B. Seidel u. D. Hildebrand, diese Ztschr. 68, 229 [1956]; C. J. Brown, A. Hill u. P. V. Youle, Nature [London] 177, 127 [1956]; s. a. M. A. Th. Rogers, ebenda 177, 128 [1956].

Die besten Ergebnisse bei der Cyclisierung werden erreicht, wenn man Dicarbonsäure-dichlorid und Diamin im Verhältnis 1:2 zur Reaktion bringt. Man kondensiert in benzolischer Lösung bei Raumtemperatur. Ein Mol des Diamins wird als Dihydrochlorid ausgeschieden und kann später wieder verwendet werden.



Als Komponenten der Reaktion wurden die Säurechloride der Dicarbonsäuren in der Reihe von Bernsteinsäure bis Brassylsäure und die Diamine Äthylendiamin, Tetramethyldiamin sowie Hexamethyldiamin verwendet. Die makrocyclischen Diamide wurden in allen Fällen glatt erhalten. Die Ausbeuten liegen oberhalb 70 % d.Th. mit Ausnahme der Ausbeuten im mittleren Ringgebiet. Hier sinken die Ausbeuten, wie zu erwarten, erheblich ab.

Durch Reduktion mit Lithiummalanat konnten alle Diamide in die cyclischen Diimine überführt werden (Ausbeuten: 70–85 % d.Th.), die ihrerseits durch Überführung in die N,N'-Ditosyl-Verbindungen (Tosyl = p-Toluolsulfonyl) charakterisiert wurden.

Dichlorid	Diamin	cycl. Fp °C	Diamid (Ausb. %)
Bernsteinsäure-	+ Hexamethylen- (n=2, m=6)	289	54
Glutarsäure-	+ Hexamethylen- (n=3, m=6)	256	68,4
Adipinsäure-	+ Hexamethylen- (n=4, m=6)	245	76,5
Pimelinsäure-	+ Hexamethylen- (n=5, m=6)	275	77,6
Korksäure-	+ Hexamethylen- (n=6, m=6)	232	74,5
Azelainsäure-	+ Hexamethylen- (n=7, m=6)	241,5	73,5
Sebacinsäure-	+ Hexamethylen- (n=8, m=6)	227	73
Brassylsäure-	+ Hexamethylen- (n=11, m=6)	222	74,5
Bernsteinsäure-	+ Tetramethylen- (n=2, m=4)	154	33,4
Glutarsäure-	+ Tetramethylen- (n=3, m=4)	265	35
Adipinsäure-	+ Tetramethylen- (n=4, m=4)	295	49
Pimelinsäure-	+ Tetramethylen- (n=5, m=4)	315	67
Korksäure-	+ Tetramethylen- (n=6, m=4)	299	73
Azelainsäure-	+ Tetramethylen- (n=7, m=4)	263	73
Sebacinsäure-	+ Tetramethylen- (n=8, m=4)	287	74,5
Adipinsäure-	+ Äthylen- (n=4, m=2)	252	24,3
Sebacinsäure-	+ Äthylen- (n=8, m=2)	234	78

Tabelle 1

Die makrocyclischen Diamide und Diimine dürften bei Anwendung dieser Cyclisierungsreaktion zu den am leichtesten zugänglichen makrocyclischen Verbindungen überhaupt gehören. Die experimentellen Einzelheiten werden demnächst an anderer Stelle⁴⁾ veröffentlicht werden.

Eingegangen am 4. April 1957 [Z 454]

⁴⁾ Liebigs Ann. Chem., im Druck.

Versammlungsberichte

Entwicklung der Arzneimittel-Resistenz in Mikroorganismen

Symposium der Ciba Foundation

26.–28. März 1957 London

C. N. Hinshelwood (Oxford) berichtete einleitend zusammenfassend über die verschiedenen Arbeitsrichtungen auf dem Gebiet der Arzneimittel-Resistenz und verwandter adaptiver Erscheinungen. Alle diese Arbeiten führen zu dem Schluß, daß unter der Wirkung eines Arzneimittels eine Neuorganisation des Enzymsystems einer Bakterienzelle eintritt, wodurch besseres Wachstum in Gegenwart des Hemmstoffs möglich ist. Diese adaptiven Änderungen sind im Prinzip reversibel. Daneben gibt es aber auch Fälle von Resistenz deren Ursache genetischer Natur (Selektion, Mutation) sind.

L. L. Cavalli-Sforza (Mailand) trug über eine neue Methode der indirekten Selektion vor, mit deren Hilfe man Streptomycin- und Chloramphenicol-resistente Mutanten von *E. coli* isolieren kann, ohne daß die Zellen dem selektiven Agens ausgesetzt werden.

Die genetischen Aspekte der Arzneimittel-Resistenz behandelte M. Demerec (Cold Spring Harbor). Es kann heute als sicher angenommen werden, daß die Arzneimittel-Resistenz durch Gene kontrolliert wird. Dies leitet sich aus statistischen Betrach-

tungen her, von genetischen Studien bei Rekombinationsversuchen bei verschiedenen Graden von Resistenz, aus Transformations- und Transduktionsversuchen und aus der Spontanmutation unter dem Einfluß mutagener Substanzen und eines mutagenen Faktors. Keiner dieser Beweise schließt aber auch die Möglichkeit eines extragenetischen Mechanismus aus.

Die durch Penicillin verursachte Resistenz in Kulturen von *Bacillus cereus* kann auf zwei Ursachen zurückgeführt werden. Durch geringe Konzentrationen von Penicillin kann die Penicillinase-Bildung sehr schnell vermehrt werden. Diese Änderung kann aber nicht als eine Änderung im Erbgut betrachtet werden, denn nach 7–12 Generationen in Abwesenheit von Penicillin ist die ursprüngliche Empfindlichkeit wieder vorhanden. Daneben kann aber auch durch eine Mutation die Penicillinase-Bildung stark vermehrt werden; hierbei ist Penicillin nur als selektives Agens notwendig. Diese Art der Penicillin-Resistenz ist genetisch stabil. Die auf beiden Wegen mehr erzeugte Penicillinase unterscheidet sich immunchemisch und physikochemisch nicht (M. R. Pollock, London).

Durch den Einfluß eines spezifischen Substrates ist es bei Hefezellen möglich, ihre fermentativen Eigenschaften zu ändern. K. V. Kossikov (Moskau) fand durch Kontrollexperimente, daß diese Änderungen nicht mutationsmäßig bedingt sind. Beim Studium des Erbgutes von Hefezellen, die an die Fermentierung von Rohrzucker und Maltose adaptiert wurden, zeigte sich, daß diese Eigenschaften auch sexual (Sporenbildung) weitergegeben werden. Die Stabilität der neuen fermentativen Fähigkeiten erwies sich auch in Kreuzungsversuchen zwischen dem veränderten Stamm und dem Ausgangsstamm. Alle Ergebnisse sprechen dafür, daß die induzierte mutagene Änderung unter dem Einfluß des Substrats eintrat. Im Gegensatz zu Mutationen, die z. B. durch Bestrahlung verursacht werden und die meist zu einem Verlust einer Eigenschaft führen, bedingen die „Substrat-Mutationen“ eine positive Änderung. Solche Änderungen könnten für die Evolution wichtig sein.

Die Proflavin-Resistenz von *E. coli* kann nach J. Yudkin (London) auf verschiedene Weise zustande kommen. 1. Durch spontane Mutation. 2. Durch Adaptation an steigende Mengen Proflavin. 3. Durch Bebrütung ruhender empfindlicher Zellen mit kleinen Mengen Proflavin für zwei oder mehr Tage. 4. Empfindliche Stämme können durch Desoxyribonucleinsäure-Extrakte resisternter Stämme zu resistenten umgewandelt werden.

Über adaptive und mutationsmäßig bedingte Änderungen der Permeabilität der Zellwand als Möglichkeit der Arzneimittel-Resistenz berichtete B. D. Davis (New York). Daneben wird aber noch ein anderer grundlegender Mechanismus der Resistenz diskutiert, der auf einer Änderung der Enzym-Substrat-Affinität beruht. Danach ist in der resistenten Zelle die Affinität Enzym-Wuchsstoff, verglichen mit der Enzym-Hemmstoff, zugunsten des Wuchsstoffes verschoben.

Die Sulfonamid-Resistenz von Pneumokokken kann nach R. D. Hotchkiss (New York) nur durch die Kontrolle von Wuchsstoffen im Kulturmedium exakt definiert werden. Solche Wuchsstoffe sind die p-Aminobenzoësäure, ihre Stoffwechselprodukte und solche Stoffe, die durch das Folsäure-System katalytisch gebildet werden. Bei Transformationsversuchen mit Desoxyribonucleinsäure zeigte sich, daß letztlich die Ursachen der Resistenz in dem System liegen, das für die Folsäure-Synthese verantwortlich ist.

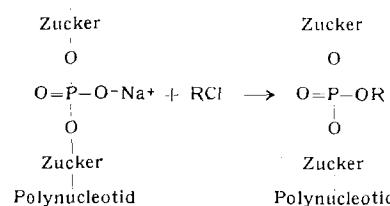
Das Auftreten von Arzneimittel-resistenten Kolonien in Kulturen von *M. tuberculosis* variiert sowohl mit dem Arzneimittel als auch mit dem Medium. R. Knox (London) fand, daß in Anwesenheit von Isoniazid auf halbfestem Agar weniger Zellen wachsen als in einem flüssigen Medium. Ein anderes Bild ergibt sich, wenn die Zellen sich drei Tage vermehren, bevor das Chemotherapeutikum dem Agar zugefügt wird. Jetzt lassen sich Kolonien isolieren, die auch gegen größte Konzentrationen Isoniazid resistent sind.

W. Kunicki-Goldfinger (Warschau) berichtete über Penicillin- und Streptomycin-Resistenz von Bakterien, die nicht auf einer Selektion spontan mutierter Bakterien beruhen, sondern auf einer Adaptierung.

Mit der Möglichkeit der Penicillin-Resistenz, verursacht durch vermehrte Penicillinase-Produktion, befaßte sich M. Barber (London). In Experimenten, die sich über einen Zeitraum von sechs Jahren erstreckten, war es nicht möglich, aus 26 penicillin-empfindlichen Stämmen von *Staphylococcus pyogenes*, Varianten zu isolieren, die nennenswerte Mengen Penicillinase produzierten, verglichen mit typisch klinischen Stämmen.

M. Westergaard (Kopenhagen) betrachtete Antibiotika als chemisch mutationsauslösende Substanzen. Es ist bekannt, daß Antibiotika bei Pflanzen Chromosomenbruch bewirken können; dies könnte auch für Bakterien zutreffen.

Der Grund für die mutagene Wirkung bestimmter Verbindungen kann in der Alkylierung der Carboxyl-Gruppen der Proteine und der Phosphat-Gruppen der Nucleinsäuren liegen. Enthält das alkylierende Agens mehr als eine funktionelle Gruppe, so können im Falle der Desoxyribonucleinsäure zwei Ketten miteinander verbunden werden. Die Triphosphatester, die bei der Alkylierung der Desoxyribonucleinsäure gebildet werden, sind nicht stabil. Bei der Hydrolyse braucht nun die hydrolysierende Gruppe nicht die zu sein, die den Alkyl-Rest trägt. Dadurch entsteht ein Bruch in der Nucleinsäure (P. Alexander, London).



Resistenz zu den Colicinen (Antibiotika die von *B. coli* gebildet werden) kann bei *B. coli* und *Shigella* durch den Verlust der spezifischen Rezeptoren für das betreffende Colicin auftreten. Diese Colicin-Rezeptoren ähneln sehr den Phagenrezeptoren. Nach P. Fréderiq (Liège) kann die Eigenschaft Colicin zu produzieren auch übertragen werden. Dabei behalten die induzierten Stämme alle ihre sonstigen Eigenschaften mit der Ausnahme, daß sie jetzt gegen das von ihnen produzierte Colicin resistent sind. Diese erworbene Resistenz beruht aber nicht auf dem Verlust des spezifischen Rezeptors, sondern ist an die Gegenwart eines „colicino-genen“ Faktors gebunden. [VB 913]

Über Kinetik an Elektroden

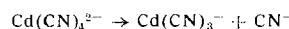
Informationstagung der Faraday Society in Bristol

am 5. April 1957

Aus den Vorträgen:

J. E. B. RANDLES, Birmingham: Galvanostatische Untersuchungen über die Hemmung von Elektrodenreaktionen durch adsorbierte Substanzen und über die Elektroreduktion von Komplexen.

Die Reduktionen von Cd^{2+} aus Cyanid-Lösungen an Cadmium-Amalgam wurde untersucht, um die offensichtliche Anomalie in den Ergebnissen von H. Gerischer¹⁾ zu klären, der annimmt, daß die Geschwindigkeit der vorgelagerten Reaktion



mit einer galvanostatischen, nicht aber mit einer Wechselstromtechnik gemessen werden kann. Messungen in einer Lösung von 0,004 M Cd^{2+} in 0,4 M CN^- zeigten, daß die Umlagerungszeit (τ) mit dem Alter des Amalgam-Tropfens abnahm. Es ist schwierig zu erklären, wie der Ablauf eines homogenen Prozesses vom Alter der Grenzschicht abhängen kann. Versuchweise wurde eine Art elektrostatischer Abstoßung von $\text{Cd}(\text{CN})_4^{2-}$ analog der Frumkin'schen Erklärung²⁾ für das Minimum der Stromstärke bei der Reduktion von Anionen wie $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ angenommen. Untersuchungen der Strom-Spannungskurven geben dieser Erklärung einige Berechtigung.

Der Einfluß von oberflächenaktiven Stoffen wie Thymol auf die Reduktion von $\text{Fe}[\text{C}_2\text{O}_4]_4^{2-}$ an Hg wurde ebenfalls galvanosta-

tisch untersucht. In der Spannung-Zeit-Kurve ließ sich eine Stufe beobachten, die umso früher auftritt, je älter der Hg-Tropfen ist. Das läßt sich so interpretieren, daß das Auftreten dieser Stufe die Zeit angibt, in der die Quecksilber-Oberfläche mit Inseln von kondensierten oberflächenaktiven Stoffen bedeckt wird, und daß somit zwei getrennte Prozesse auftreten. Durch Zugabe von Thiophanstoff wird die oberflächenaktive Substanz desorbiert und die Elektrodenreaktionen beschleunigt. Die Beobachtung von L. Gierst und A. L. Juillard³⁾, daß durch eine Zugabe von Gelatine die Neigung bei der $i\tau_{1/2}/i$ -Darstellung vermindert wird, konnte nicht bestätigt werden.

W. F. K. WYNNE-JONES, Newcastle: Sauerstoff-Überspannung und anodische Reaktionen.

Es ist besonders wichtig, den Zustand der Oberfläche bei anodischen Elektrodenreaktionen zu beobachten, zumal die meisten dieser Reaktionen die Elektrode angreifen. Eine automatische Methode, die Stromspannungskurve schnell zu ermitteln, die in Newcastle entwickelt wurde, überwindet diese Schwierigkeiten. Die Ergebnisse, soweit sie die Sauerstoff-Überspannung betreffen, rechtfertigen komplizierte Theorien, wie sie von J. O'M. Bockris und A. K. M. S. Huq⁴⁾ entwickelt wurden, nicht.

Die Kolbe-Reaktion wurde an Platin und Gold untersucht. Hicklings Anomalie⁵⁾ wurde bestätigt durch Untersuchung der Sauerstoff-Entwicklung aus gleichartigen Lösungen. Der Über-

¹⁾ Z. Elektrochem. 57, 604 (1953); Z. physik. Chem. (N. F.) 2, 79 (1954).

²⁾ Proc. Roy. Soc. [London] Ser. A 237, 277 (1956).

³⁾ A. Hickling, Disc. Faraday Soc. 1, 227 (1947).