

Ia gar nicht gelb sein kann: im farblosen 2-Phenyl-4-isopropyliden-oxazolone-(5) (III) steht eine Phenylgruppe mit dem Alkyliden-oxazolone-System in Konjugation. Im nur hellgelben 2-Phenyl-4-benzal-oxazolone-(5) (Ic) tragen zwei Phenylkerne zur Farbvertiefung bei. Die 2-Methyl-4-benzal-Verbindung Ia mit ihrem einzigen, allerdings in anderer Stellung stehenden Phenylkern kann, wie die UV.-Absorptionsspektren bestätigen, höchstens eine Mittelstellung einnehmen (in dicker Schicht blass grünlichgelber Oberflächenglanz der Kristalle).

Absorptionsmaxima von Azlaktonen in Äther¹

-oxazolone-(5)	Maximum 1		Maximum 2	
	$\lambda_{\max.}$ in m μ	log ϵ	$\lambda_{\max.}$ in m μ	log ϵ
2-Phenyl-4-isopropyliden- . .	309	4,44	234,5	4,12
2-Methyl-4-benzal- (farblos, rein)	327	4,46	231	3,88
2-Methyl-4-benzal- (gelb, unrein)*	327	4,50	232	3,90
2-Benzyl-4-benzal-	330,5	4,63	231,5	4,07
2-Phenyl-4-benzal-	360	4,64	260	4,25
2-Styryl-4-benzal-	374	4,79	289	4,37

* Die als Verunreinigung vorhandene 2-Styryl-Verbindung verursacht ein zusätzliches Maximum bei 373 m μ mit log ϵ = 2,81.

Die Bildung des 2-Styryl-azlaktons Ib scheint auf einer zusätzlichen Kondensation der 2-Methylgruppe des 2-Methyl-azlaktons Ia mit überschüssigem Benzaldehyd zu beruhen. Die Methylgruppe wird durch das heterozyklische System zu einem gewissen Grad aktiviert: farbloses 2-Methyl-azlakton Ia lieferte mit Benzaldehyd und ZnCl₂ bei 130° 2-Styryl-azlakton Ib (Ausb. 18%); eine solche Umsetzung kann in geringerem Mass wohl auch unter den milderer Bedingungen der Azlakton-Kondensation erfolgen.

Auch das 2-Benzyl-4-benzal-oxazolone-(5) (Id), das ERLÉNMEYER und KUNLIN² aus Phenazetursäure und Benzaldehyd als gelbe Platten erhalten hatten, sollte farblos sein, da sein System konjugierter Doppelbindungen mit dem der 2-Methyl-Verbindung Ia identisch ist (keine Konjugation zum zusätzlichen Phenylkern der Benzylgruppe). Tatsächlich gab die durch Aufspaltung des rohen, gelben Azlaktons gewonnene α -Phenylazetamido-zimtsäure (IIb) mit Azetanhydrid ein praktisch farbloses Azlakton Id (Smp. 106–107°), dessen UV.-Absorptionsspektrum erwartungsgemäss demjenigen der 2-Methyl-Verbindung Ia sehr ähnlich ist.

K. RÜFENACHT

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel, den 22. Februar 1954.

Summary

In the pure state 2-methyl-4-benzal-oxazolone-5 and 2-benzyl-4-benzal-oxazolone-5 are both colourless. The yellow 2-methyl-azlactone prepared by azlactone syn-

thesis is contaminated with 2-styryl-4-benzal-oxazolone-5 which has obviously been formed from the 2-methyl-azlactone with excess benzaldehyde in an additional condensation reaction.

Activité staphylostatique de composés du groupe des benzophénarsazines

A part l'activité sternutatoire intense de la 10-chloro-9,10-dihydrophénarsazine (adamsite) qui a fait utiliser ce corps comme «gaz» de combat au cours de la première guerre mondiale¹, les propriétés biologiques des substances appartenant au groupe de la phénarsazine ont été rarement étudiées jusqu'à présent. L'analogie de structure entre les benzophénarsazines angulaires² et les benzacridines cancérogènes avait amené LACASSAGNE, BUU-HOÏ, ROYER et RUDALI³ à examiner l'action de quelques-unes de ces benzophénarsazines sur la peau de la souris, et ces auteurs ont reconnu à certains de ces corps une activité oncogène nette quoique faible (épilation, hyperkératose, production de papillomes bénins). Parmi les substances polycycliques cancérogènes connues, le 3,4-5,6-dibenzozocarbazole (I), structurellement voisin des benzophénarsazines angulaires, possède une activité antibactérienne intense vis-à-vis du staphylocoque⁴. Nous avons donc pensé qu'il était intéressant de rechercher si les benzophénarsazines angulaires posséderaient, elles aussi, des propriétés antibactériennes.

La technique expérimentale que nous avons utilisée est la suivante: les substances à étudier sont mises en solution dans l'éthanol, puis diluées en bouillon nutritif, de manière à obtenir des concentrations de 10 et 1 γ /ml. Les bouillons contenant 10 et 1 γ /ml sont ensemencés, d'une part, avec une goutte d'une culture d'*Escherichia coli*, âgée de 18 h et diluée au 1/10⁶, d'autre part, avec une goutte d'une dilution identique d'une culture analogue de *Micrococcus pyrogenes* var. *aureus*. Les cultures sont mises en incubation à 37°, et examinées journalièrement durant 3 ou 4 jours; leur développement est estimé par appréciation visuelle du trouble. Dans les cas où une inhibition persistante de croissance a été observée en présence de 10 γ /ml de la substance étudiée, un second essai a été fait comme suit: des bouillons contenant 40, 20, 10, 5, 2,5, 1,25 et 0,62 γ /ml de substance sont ensemencés, incubés et examinés comme ci-dessus pour déterminer avec plus de précision la concentration inhibitrice minimale.

Dans ces conditions, 6 substances examinées ont donné les résultats suivants:

Sur le staphylocoque, la 2'-(1-méthylcyclohexyl)-10-chloro-9,10-dihydro-3,4-benzophénarsazine (II) produit un retard de croissance aux concentrations de 10 γ /ml et 1 γ /ml, son dérivé 6-méthylé (III) est staphylostatique aux concentrations supérieures à 10 γ /ml, et la 10-chloro-9,10-dihydro-3,4-5,6-dibenzophénarsazine (IV) est active à la concentration de 5 γ /ml. Le remplace-

¹ Voir J. MEYER, *Der Gaskampf und die chemischen Kampfstoffe*, 3^e édit. (Leipzig 1938), p. 338. – O. MUNTSCH, *Leitfaden der Pathologie und Therapie der Kampfstoffkrankungen*, 4^e édit. (Leipzig 1936), p. 102.

² N. P. BUU-HOÏ, H. K. WEI et R. ROYER, *Rev. sci.* 82, 453 (1944). – N. P. BUU-HOÏ, H. LE BIHAN et F. BINON, *J. Org. Chem.* 16, 185 (1951).

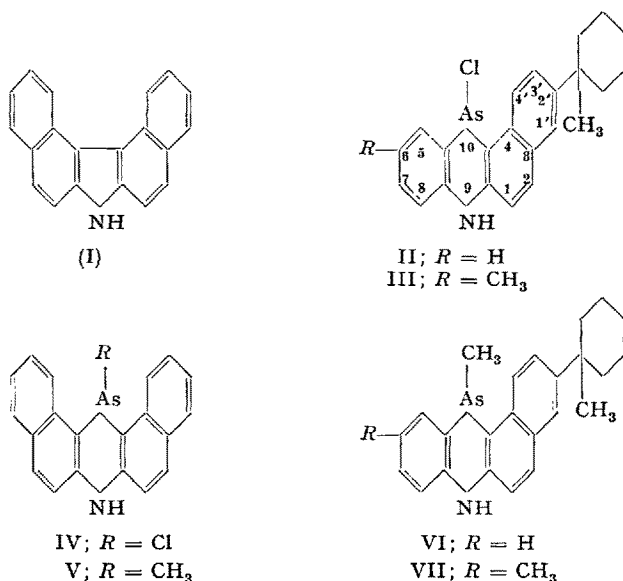
³ A. LACASSAGNE, N. P. BUU-HOÏ, R. ROYER et G. RUDALI, *C. r. Soc. Biol.* 145, 1451 (1951).

⁴ C. H. BROWNING et J. B. COHEN, *Brit. Med. J.* 2, 695 (1921).

¹ Vgl. E. L. BENNETT und E. HOERGER, *Amer. Soc.* 74, 5975 (1952). – Die UV.-Absorptionsspektren wurden von Herrn Dr. P. ZOLLER, Org. Chem. Anstalt der Universität Basel, auf einem Unicam-Spektrophotometer, Modell SP 500, aufgenommen.

² E. ERLÉNMEYER und J. KUNLIN, *Liebigs Ann. Chem.* 307, 163 (1899).

ment, chez ces composés, des atomes de chlore par des radicaux méthyles augmente l'activité, car la 2'-(1-méthylcyclohexyl)-10-méthyl-9,10-dihydro-3,4-benzophénarsazine (VI) et la 10-méthyl-9,10-dihydro-3,4-5,6-dibenzophénarsazine (V) sont staphylostatiques à la concentration de 1,25 γ /ml, et la 2'-(1-méthylcyclohexyl) 6,10-diméthyl-9,10-dihydro-3,4-benzophénarsazine (VII) l'est à la concentration de 2,5 γ /ml.



Par contre, aucune des 6 substances étudiées n'a montré d'activité bactériostatique vis-à-vis d'*Escherichia coli* à la concentration de 10 γ /ml.

En résumé, dans le groupe de benzophénarsazines angulaires, structurellement apparentées au 3,4-5,6-dibenzocarbazole, on trouve des composés possédant une activité bactériostatique élevée vis-à-vis du *Staphylococcus*. On est tenté de penser que, dans les deux cas, les récepteurs cellulaires attaqués pourraient être les mêmes.

N. P. BUU-HOÏ et M. WELSH

Institut du Radium de l'Université de Paris et Institut de Bactériologie de l'Université de Liège, le 14 janvier 1954.

Summary

It is shown that certain compounds belonging to the group of angular benzophenarsazines display a high specific bacteriostatic activity towards *Micrococcus pyogenes* var. *aureus*. This biological property provides a further ground of similarity between these compounds and one of their structural analogues, 3,4-5,6-dibenzocarbazole.

Aureomycin Inactivation by Pathogenic Bacteria

While several organisms have been reported to be resistant to aureomycin¹, there seems to be no reference

in the literature regarding inactivation of aureomycin by bacteria¹. However, the reversal of aureomycin inhibition of *Escherichia coli* by complex natural material has been shown recently². During our studies on the effect of antibiotics in the growth medium on the elaboration of certain enzymes by *Vibrio cholerae*, it was observed that this organism grew well on a medium containing aureomycin in concentrations as high as 1:80,000. It was, therefore, considered of interest to find out whether aureomycin was being inactivated by certain substances produced by *V. cholerae* and if so whether this property was present in other pathogens also. The preliminary results obtained are reported in the present communication.

The procedure adopted for studying the inactivation of aureomycin by *V. cholerae* and other organisms was similar to Gots' method³ for detection of penicillinase. 0.5 ml of 24 h old broth culture of *Staph. aureus* (Oxford) and the desired amount of aureomycin hydrochloride solution (1 mg/ml) were added to 100 ml of melted papain-meat agar (pH 7) at approximately 45°C, mixed thoroughly and dispensed in 12–15 ml lots into sterile petri dishes. 24 h old cultures of organisms under test were then streaked in the middle of the *Staph. aureus*-aureomycin-agar plate and incubated at 37°C. The growth of *Staph. aureus* in the vicinity of the streak was noted after 1, 2, and 3 days of incubation.

From the results presented in the Table, it would appear that the organisms inactivated aureomycin to different levels, as shown by the rapidity and extent of appearance of growth of *Staph. aureus* around the streaked organism. Under identical conditions, the control plates did not show any growth of *Staph. aureus*. In the case of *B. subtilis*, *Proteus X19H* and *Ps. aeruginosa*, it was also observed that the growth of *Staph. aureus* was inhibited in the immediate vicinity of the streak, due obviously to the production of substances inhibitory to the seeded organism.

It would also appear that the Gram negative organisms inactivated the antibiotic to a greater degree than the Gram positive ones. Of the organisms tested, the maximum inactivation was brought about by *Ps. aeruginosa* and *Proteus X19H*, which incidentally have been reported to be quite resistant to aureomycin⁴. The inactivation of aureomycin reported herein may be due either to the breakdown of aureomycin or to the elaboration of substances capable of blocking the inhibitory action of this antibiotic. The latter possibility would be in conformity with the recent findings of FOSTER and PITILLO⁵, who have shown the reversal of aureomycin inhibition by a number of vitamins, amino acids and related compounds.

Further work on the nature of aureomycin inactivation is in progress.

S. N. IYER, A. T. DUDANI, and
D. L. SHRIVASTAVA.

Central Drug Research Institute, Lucknow, India, January 28, 1954.

¹ T. F. PAINE, JR., H. S. COLLINS, and M. FINLAND, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **51**, 228 (1948); *J. Bact.* **56**, 489 (1948). – P. H. LONG, *Bull. N. Y. Acad. Med.* **28**, 809 (1952).

² J. W. FOSTER and R. F. PITILLO, *J. Bact.* **65**, 361 (1953).

³ J. S. GOTS, *Science* **102**, 309 (1945).

⁴ C. W. PRICE, W. A. RANDALL, and H. WELCH, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **51**, 211 (1948). – J. C. RANSMEIER, H. E. BROWN, and N. DAVIS, *J. Lab. Clin. Med.* **38**, 620 (1951). – T. F. PAINE, JR., H. S. COLLINS, and M. FINLAND, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **51**, 228 (1948).

⁵ J. W. FOSTER and R. F. PITILLO, *J. Bact.* **66**, 478 (1953).

¹ C. W. PRICE, W. A. RANDALL, and H. WELCH, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **51**, 211 (1948). – T. M. GÖCKE and M. FINLAND, *J. Lab. Clin. Med.* **38**, 719 (1951). – J. C. RANSMEIER, H. E. BROWN, and N. DAVIS, *J. Lab. Clin. Med.* **38**, 620 (1951).