

mit Natriumäthylatlösung im Überschuß versetzt und noch kurz auf dem Wasserbad erwärmt. Nach dem Abdampfen des Alkohols wird in Wasser und Äther gelöst. Schmp. der aus der Ätherlösung gewonnenen Krystalle aus Alkohol 58—58.5°.

$C_{13}H_{10}O_3Cl_6$  (426.8) Ber. C 36.55 H 2.36 Cl 49.85

Gef. C 36.73 H 2.38 Cl 49.26.

Perchlor-2-[ $\beta$ -äthoxy-vinyl]-benzoesäureanilid: Zu 2 g Säure gibt man 2 cem Thionylchlorid und kocht 1 Stde. unter Rückfluß. Man verdünnt mit Äther und fügt tropfenweise eine äther. Anilinlösung zu. Nach dem Ausschütteln mit 2*n* HCl und Wasser wird der Äther verjagt. Der Rückstand wird zweimal aus Tetrachlorkohlenstoff umkrystallisiert; Schmp. 185.5—186°.

$C_{17}H_{11}O_2Cl_6N$  (475.0) Ber. C 43.05 H 2.34 N 3.25 Cl 44.90

Gef. C 42.77 H 2.45 N 3.30 Cl 45.29.

Perchlor- $\beta$ -äthoxy-hydrinden (V): Diese Verbindung wird neben Perchlor-2-[ $\beta$ -äthoxy-vinyl]-benzoesäure nach dem bei der Darstellung dieser Säure beschriebenen Verfahren erhalten, wenn man einen Unterschub von alkohol. Kali anwendet. 46.3 g Perchlorhydrinden werden mit 500 cem Alkohol und 200 cem *n*/<sub>10</sub> Lauge 20 Min. gekocht. Die sauren Ätherauszüge liefern 5—6 g rohe Säure; Reinigung wie vorher. In der alkalisch gewonnenen Ätherlösung finden sich 35—38 g rohes Perchlor- $\beta$ -äthoxy-hydrinden. Schmp. nach je 3-maliger Umkrystallisation aus Tetrachlorkohlenstoff und Alkohol 108°.

$C_{11}H_5OCl_9$  (472.2) Ber. C 27.95 H 1.07 Cl 67.59

Gef. C 28.06 H 1.20 Cl 67.70.

Perchlor- $\beta$ -äthoxy- $\alpha,\gamma$ -diketo-hydrinden (VIII): 2 bis 4 g Perchlor- $\beta$ -äthoxyhydrinden oder Perchlor- $\alpha,\beta,\gamma$ -triäthoxy-hydrinden werden mit 8 cem rauchender Salpetersäure erhitzt. Die Oxydation des einfach äthoxylierten Produktes ist nach 2½ Stdn., die des dreifach äthoxylierten erst nach 8 Stdn. beendet. Die salpetersaure Lösung wird mit Natriumcarbonat neutralisiert und ausgeäthert; Schmp. des Diketons nach zweimaliger Krystallisation aus Tetrachlorkohlenstoff oder Alkohol 118—119°.

$C_{11}H_5O_3Cl_5$  (362.4) Ber. C 36.45 H 1.38 Gef. C 36.40 H 1.23.

### 35. Leonhard Birkofer: Chlororaphin, ein weiteres farbiges Stoffwechselprodukt des *Bacillus pyocyaneus*.

[Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin, Forschung, Heidelberg,  
Institut für Chemie.]

(Eingegangen am 21. Dezember 1946.)

Aus 14 Tage alten Kulturen von *Bacillus pyocyaneus* wurde sowohl Chlororaphin als auch Oxychlororaphin (Phenazin- $\alpha$ -carbonamid) isoliert.

Bekanntlich bildet der *Bacillus pyocyaneus* den in Chloroform löslichen blauen Farbstoff Pyocyanin, dessen Konstitution von F. Wrede<sup>1)</sup> aufgeklärt und durch Synthese bewiesen wurde.

Mehrere Wochen alte Bouillonkulturen von *Bac. pyocyaneus* enthalten nach unseren Erfahrungen praktisch kein Pyocyanin mehr. Durch Extraktion solcher Kulturen mit Äther und Auskochen des Ätherrückstandes mit Benzol erhielten wir eine Verbindung, die sich aus Benzol in schwach grünstichig hellgelben Blättchen und aus Methanol in Nadeln abschied. Sowohl der Schmelz-

<sup>1)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **140**, 1 [1924]; **142**, 103 [1925]; **177**, 177 [1928]; **181**, 58 [1928]; B. **62**, 2051 [1929].

punkt (243°) als auch die Bruttoformel  $C_{13}H_9ON_3$  sprachen für das Vorliegen von Phenazin- $\alpha$ -carbonamid. Dieses ist nach F. Kögl und J. J. Postowsky<sup>2)</sup> mit dem von Ph. Lasseur<sup>3)</sup> aus *Bac. chlororaphis* isolierten Oxychlororaphin identisch. Zum Vergleich synthetisierten wir Phenazin- $\alpha$ -carbonamid (Schmp. 242°) nach Kögl<sup>12)</sup>. Der Misch-Schmelzpunkt mit unserem Präparat ergab keine Erniedrigung.

Lasseur<sup>3)</sup> teilte bereits 1911 mit, daß *Bac. chlororaphis* grüne Krystalle, die er Chlororaphin nannte, in der Kulturflüssigkeit ausscheidet. Es handelt sich um ein chinhydronartiges Reduktionsprodukt des Phenazin- $\alpha$ -carbonamids. Da wir in 14 Tage alten Pyocyaneus-Kulturen grüne Krystalle bemerkten, lag für uns nach der vorherigen Isolierung von Oxychlororaphin die Vermutung nahe, daß auch *Bac. pyocyaneus* Chlororaphin bildet. Durch Äther- oder Benzolextraktion unter Sauerstoffausschluß gewannen wir die grünen Krystalle, deren Mischung mit synthetischem Chlororaphin (Schmp. 227°) keine Schmelzpunktserniedrigung aufwies. Die wechselnden Ausbeuten an Chlororaphin beruhen auf seiner leichten Dehydrierbarkeit zu Phenazin- $\alpha$ -carbonamid, die schon in der Bakterienkultur und weiterhin im Laufe der Isolierung erfolgt.

Chlororaphin wird also nicht nur, wie bisher bekannt war, von *Bac. chlororaphis*, sondern auch von *Bac. pyocyaneus* gebildet, wie die Untersuchung von 10 Stämmen verschiedener Herkunft ergab.

### Beschreibung der Versuche.

Wir benutzten einen Pyocyaneus-Stamm aus dem bakteriologischen Laboratorium von Schott & Gen., Jena, und mehrere Stämme aus dem Hygienischen Institut der Universität Heidelberg<sup>4)</sup>. Das von uns verwandte Nährmedium enthielt 25 g „Standard I Nährbouillon“ von E. Merck und 20 g Glucose/l ( $p_H$  etwa 7). Die Bakterien wurden bei 28° in Fernbachkolben gezüchtet. Nach 2-wöchigem Wachstum hatte die Lösung ein  $p_H$  8.2 — 8.5.

Isolierung von Phenazin- $\alpha$ -carbonamid: Die Kulturflüssigkeit (1.3 l) wurde mit 2n  $H_2SO_4$  auf  $p_H$  7 eingestellt und 24 Std. mit Äther extrahiert. Nach dem Trocknen und Abdampfen des Äthers wurde der grünbraune, schmierige Rückstand (260 mg) mit etwa 10 ccm Benzol ausgekocht. Aus der erkalteten benzolischen Lösung fielen gelbe Blättchen aus (40 mg). Aus Benzol (unter Zusatz von wenig Tierkohle) grünstichige, hellgelbe Blättchen vom Schmp. 242—243°.

$C_{13}H_9ON_3$ (223.1)	Ber. C 69.92	H 4.07	O 7.2	N 18.84
	Gef. C 69.59, 70.21	H 4.26, 4.44	O 7.5, 7.4	N 18.93, 18.87.

Isolierung von Chlororaphin: Die Gewinnung des Chlororaphins aus der Bakterienlösung erfolgte ebenso wie die des Phenazin- $\alpha$ -carbonamids, nur daß bei der Extraktion und dem Abdampfen des Äthers unter Stickstoff gearbeitet wurde. Der grüne Ätherrückstand wurde aus Aceton + Wasser umkrystallisiert. Schmp. 227°; Ausb. 5—15 mg aus 1 l. Aus 6 bis 8 Wochen alten Kulturen konnte nur noch Phenazin- $\alpha$ -carbonamid, jedoch kein Chlororaphin isoliert werden.

<sup>2)</sup> A. 480, 280 [1930].

<sup>3)</sup> Thèses, Faculté des Sciences de l'Université de Nancy, 1911.

<sup>4)</sup> Hrn. Dr. med. H. Knöll, Schott & Gen., Jena, und dem Hygienischen Institut der Universität Heidelberg sei für die Überlassung der Stämme bestens gedankt.

Zur Darstellung der Phenazin- $\alpha$ -carbonsäure<sup>2)</sup> sei empfohlen, die Anthranilsäure (25 g) mit fein gepulvertem Kaliumhydroxyd (50 g) gut zu vermischen und dann das Nitrobenzol (25 g) unter kräftigem Umrühren langsam hinzuzufügen.

Phenazin- $\alpha$ -carbonamid führten wir nach Kögl<sup>2)</sup> durch Reduktion in wäbr. Suspension mit Zinkstaub in Chlororaphin über.

Für die wertvolle Unterstützung bei der Ausführung dieser Arbeit danke ich meiner Frau.

### 36. Wilhelm Treibs und Leo Schulz: Über die Autoxydation olefinischer Verbindungen, II. Mittel.\*): Über die Autoxydation von Cycloolefinen, insbesondere von Cyclohexen, in Gegenwart von Aldehyden.

[Aus dem Privatlaboratorium Dr. W. Treibs und dem wissenschaftlichen Laboratorium von Schimmel & Co. A.G., Miltitz.]

(Eingegangen am 15. Januar 1947.)

Während molekularer Sauerstoff beim Cyclohexen fast ausschließlich an der Methylengruppe neben der Doppelbindung angreift, lagert sich durch Benzaldehyd aktivierter Sauerstoff an der Doppelbindung selbst an. Es entsteht der Monobenzoessäureester des *cis*-Cyclohexandiols-(1.2).

In der ersten Mitteilung\*) war gezeigt worden, daß bei der Behandlung aromatisch-olefinischer Verbindungen vom Typ des Anethols mit molekularem Sauerstoff in Gegenwart von Aldehyden, wie Benzaldehyd oder Heliotropin, der Sauerstoff zunächst durch den Aldehyd mobilisiert und dann an das Olefin angelagert wird. Der Aldehyd spielt also die Rolle des Sauerstoffaktivators, das Olefin dient als Sauerstoffacceptor. Das zunächst entstehende, reaktionsfähige Primäraddukt von Sauerstoff an Olefin ist zu verschiedenartigen Sekundärreaktionen befähigt, deren interessanteste die Anlagerung eines Moleküls Aldehyd zum Glykolmonoester ist, der seinerseits durch angeregten Sauerstoff an der freien Hydroxylgruppe zum Ketolester weiteroxydiert werden kann.

Von wissenschaftlichem und möglicherweise auch präparativem Interesse war die Prüfung, inwieweit diese eigenartige oxydative Abwandlung des Anethols auch auf andere Olefinklassen anwendbar sei. Die Feststellung, ob ein an sich autoxydationsträges Olefin zur Aufnahme aldehydisch angeregten Sauerstoffs überhaupt befähigt ist, kann, soweit es sich um wenig flüchtige Aldehyde und Olefine handelt, leicht dadurch getroffen werden, daß man zu verschiedenen Autoxydationszeiten die Sauerstoffaufnahme gewichtsmäßig und die aus dem zugesetzten Aldehyd entstandene Säuremenge titrimetrisch ermittelt. Aus dem in Äquivalente umgerechneten Verhältnis beider Zahlen ergibt sich, ob 1. nur der Aldehyd, oder 2. nur das Olefin, oder 3. beide zugleich autoxydiert werden.

Als Tetralin und Hydrinden, die beide ohne Zusätze verhältnismäßig autoxydabel sind, in Gegenwart von Benzaldehyd mit Sauerstoff behandelt

\*) I. Mittel.: L. Schulz u. W. Treibs, B. 77, 377 [1944].