

102. Richard Kuhn und Leonhard Birkofe^r: Zur bakteriostatischen Wirkung halogenhaltiger basischer Phenole*)

[Aus dem Max Planck-Institut für Medizinische Forschung, Heidelberg,
Institut für Chemie]

(Eingegangen am 13. April 1951)

Chlor- und bromhaltige Derivate des Salicils (2.2'-Dioxy-benzils), die man durch Veränderungen einerseits der phenolischen Oxygruppen, andererseits der Carbonylgruppen erhielt, wurden bakteriostatisch geprüft. Der aus Globin und Tetrachlorsalicil erhältliche Symplex wurde mit Hämoglobin verglichen.

Die hohe bakteriostatische Wirkung, die an chlor- und bromhaltigen 2.2'-Dioxy-benzilen *in vitro* erkannt worden ist¹⁾, hat uns veranlaßt, in den Jahren 1943–45 weitere Derivate solcher Verbindungen darzustellen, über die im folgenden berichtet wird. Die Wirksamkeit gegenüber verschiedenen Staphylokokkenstämmen, die für 5.5'-Dibrom-salicil (I) und 3.3'.5.5'-Tetrachlor-salicil (II) bei 1 : 250000 bis 1 : 2000000 (totale Hemmung) lag²⁾, ist dabei mehrfach erreicht, aber nicht nennenswert überschritten worden³⁾. Dieses Ergebnis stimmt überein mit den Erfahrungen, über die in der Zwischenzeit von Ng. Ph. Buu-Hoi⁴⁾, W. H. Wagner⁵⁾, J. Finkelstein und S. M. Linder⁶⁾ sowie von H. Knobloch und E. Schraufstätter⁷⁾ berichtet worden ist. Gemeinsam ist den bisher untersuchten Verbindungen dieser Körperlasse die Eigenschaft, durch Serum enthemmt zu werden⁸⁾, so daß sie wohl Desinfektionsmittel, nicht aber Chemotherapeutika darstellen. Der Wirksamkeitsverlust bei Gegenwart von Serum ist aber nicht eine Proteinwirkung schlechthin. Es hat sich ergeben, daß vor allem das Serum-Globulin⁹⁾ Enthemmung bewirkt, nicht aber Serum-Albumin²⁾.

In der Absicht, die Reaktion mit Serum-Globulin zu unterdrücken, haben wir einerseits die OH-Gruppen verestert und andererseits N-haltige basische Gruppen in halogenierte Salicile eingeführt¹⁰⁾ und sind so zu bakteriostatisch wirksamen Verbindungen gelangt, die teilweise wie das aus 5.5'-Dibrom-salicil

*) Umgearbeitete, am 26. Juni bei der Redaktion eingegangene Fassung des Manuskripts. Das obige Eingangsdatum ist das des ursprünglichen, inhaltlich mit der vorliegenden Fassung übereinstimmenden Manuskripts. *Die Redaktion*

¹⁾ R. Kuhn, L. Birkofe^r u. E. F. Möller, B. 76, 900 [1943].

²⁾ E. F. Möller u. C. Knoevenagel, Klin. Wschr. 27, 489 [1949]; E. F. Möller, im Druck.

³⁾ Über Ester des Tetrachlorsalicils, welche die freie Verbindung übertreffen, vergl. Tafel 1 auf S. 665. ⁴⁾ Compt. rend. Acad. Sciences 221, 202 [1945].

⁵⁾ Dtsch. med. Wschr. 72, 85 [1947].

⁶⁾ Journ. Amer. chem. Soc. 71, 1010 [1949]. ⁷⁾ B. 81, 224 [1948].

⁸⁾ G. Domagk, Pathologische Anatomie u. Chemotherapie der Infektionskrankheiten (G. Thieme, Stuttgart, 1947), 143.

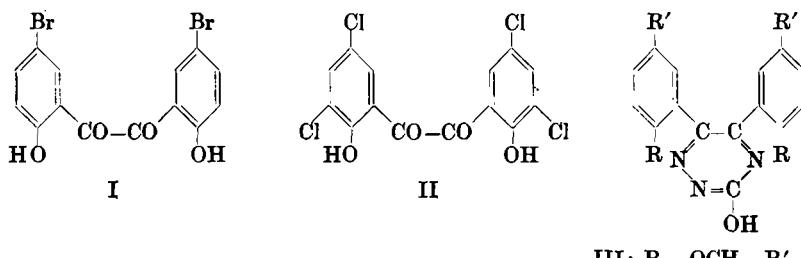
⁹⁾ α -, β - u. γ -Serum-Globulin sind noch nicht einzeln geprüft.

¹⁰⁾ Morphin, Adrenalin u. a. basische Phenole erfahren keine Inaktivierung durch Serum.

und 2 Moll. Colamin erhaltene Kondensationsprodukt vom Schmp. 182–183° ebenso wirksam waren, aber auch noch den „Serum-Effekt“ zeigten.

Zur Veresterung der OH-Gruppen wurden 3.3'.5.5'-Tetrachlor-2.2'-dioxy-benzil (II) und 5.5'-Dibrom-2.2'-dioxy-benzil (I) mit den entsprechenden Säure-anhydriden gekocht und dabei die jeweiligen Diacetate, Dipropionate und Dibutyrate erhalten. Weiter stellten wir durch Umsatz von I mit Chlorsulfonsäure in Pyridin das leicht wasserlösliche I-Dischwefelsäure-dikaliumsalz dar.

In alkoholischer Lösung entstand aus Dimethoxybenzil und Semicarbazid das 2,2'-Dimethoxy-benzil-bis-semicarbazon, während in Eisessig als Lösungsmittel sich das 3-Oxy-5,6-bis-[*o*-methoxy-phenyl]-triazin-(1.2.4) (III) bildete. Dioxybenzil gibt mit Semicarbazid das 3-Oxy-5,6-bis-[*o*-oxy-phenyl]-triazin-(1.2.4) (IV) und ein Nebenprodukt der Summenformel $C_{14}H_{11}O_3N$. I wird mit Semicarbazid in 3-Oxy-5,6-bis-[5-brom-2-oxy-phenyl]-triazin-(1.2.4) (V) übergeführt,

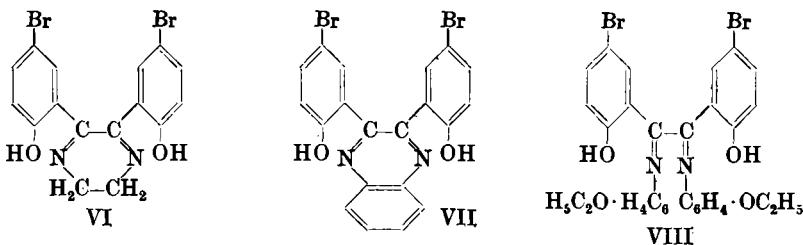


III: R = OCH₃, R' = H

IV: R = OH, R' = H

V: R = OH, R' = Br

An Aminen wurden außer dem erwähnten Colamin Äthylendiamin und *o*-Phenyldiamin mit I umgesetzt, wobei das 2,3-Bis-[5-brom-2-oxy-phenyl]-5,6-dihydro-pyrazin (VI) und das 2,3-Bis-[5-brom-2-oxy-phenyl]-chinoxalin (VII) entstand.



Von der Verbindung VII gibt es eine gelbe und eine weiße Diacetylverbindung, bei deren Verseifung in beiden Fällen das freie Chinoxalin entsteht. Durch Kochen mit Eisessig lagert sich das gelbe Diacetat in das weiße Isomere um.

p-Phenetidin gibt mit I ein Kondensationsprodukt, das aus 1 Mol. I und 2 Moll. Amin aufgebaut ist (VIII).

Die mit den Kondensationsprodukten gemachten Erfahrungen dürften an Interesse gewinnen, seitdem aus Aureomycin, einem in der Natur aufgefunden-

denen Antibioticum¹¹⁾, durch alkalischen Abbau 5-Chlor-salicylsäure isoliert worden ist¹²⁾. Im Aureomycin nimmt das Halogenatom eine analoge Stellung ein wie in den von uns dargestellten Verbindungen; es enthält 1 pheno-lische (enolische) Oxygruppe, bei deren Verätherung die Wirksamkeit, ebenso wie bei den halogenierten Salicilen, erlischt; es besitzt basische Eigenschaften, 2 N-Atome pro Mol., die es mitbedingen können, daß keine Enthemmung durch Serum stattfindet, so daß Aureomycin chemotherapeutisch wertvoll ist. Es entfaltet seine Wirkung nicht nur gegen zahlreiche gram-positive und gram-negative Bakterien, sondern auch in gewissem Ausmaße gegen höhere Viren, was daran erinnert, daß nach Einwirkung halogenierter Salicile auf Grippe-Virus und Rickettsien *in vitro* bereits Anzeichen von Wirksamkeit festgestellt worden sind¹³⁾.

Im Laufe der letzten Jahre sind Erklärungsversuche^{5,14)} für die bakteriostatische Wirkung halogenierter Salicole und verwandter Verbindungen unternommen worden, die, wie uns scheint, mitunter zu einseitig auf die Betrachtung einzelner funktioneller Gruppen hinauslaufen. Das vorliegende experimentelle Material ermöglicht eine Vielheit von Vergleichen, aber noch keine einheitliche Deutung des Wirkungsmechanismus.

Nach A. Schönberg¹⁴⁾ reagiert 2-Oxy-2'-methoxy-benzil mit Phenylaminoessigsäure in Wasser bereits bei 37° im Laufe von 48 Stdn. unter oxydativer Desaminierung, die zu Benzaldehyd (isoliert als Phenylhydrazone) führt. Als wesentlich wird demgemäß eine Streckerse Reaktion der CO-CO-Gruppen mit den in der Nährösung enthaltenen Aminosäuren angesehen, wie sie auch von Alloxan, Ninhhydrin, Glyoxal u.a. gegeben wird. Abgesehen davon, daß entsprechende Versuche mit den bakteriostatisch viel wirksameren Halogenverbindungen noch nicht beschrieben sind, und daß eine stöchiometrische Betrachtung über den Aminosäuregehalt der am hiesigen Institut verwendeten synthetischen und natürlichen Nährösungen, in denen die Präparate an Bakterien ausgetestet wurden, gegen einen Aminosäure-Effekt schlechthin sprechen, ist die bedeutende Aktivität der Kondensationsprodukte von 5.5'-Dibrom-salicil (I) mit *o*-Phenyldiamin, mit Semicarbazid, mit Colamin und anderen N-haltigen Basen mit der von A. Schönberg begründeten Betrachtungsweise nicht auf einen Generalnenner zu bringen. Es fällt schwer anzunehmen, daß die angeführten N-haltigen Derivate ihre Wirksamkeit einem völlig anderen Prinzip verdanken als die Stammsubstanzen, welche die freien CO-CO-Gruppen enthalten. Andererseits wird man auch die Möglichkeit, daß so beständige Ringsysteme wie Chinoxaline und Oxytriazine mit Aminosäuren unter physiologischen Bedingungen eine Uraminierung eingehen könnten, wohl nicht ernstlich in Betracht ziehen.

Ein Protein, das 5.5'-Dibrom-salicil (I) bindet, liegt im Globin vor. Der günstigeren Löslichkeitseigenschaften halber haben wir vor allem die Bindung von 3.3'.5.5'-Tetrachlor-salicil (II) an die Eiweißkomponente des Blutfarbstoffs vom Rind untersucht. Es ergab sich, daß 1 Mol. Globin 2 Moll. Tetra-

¹¹⁾ R. W. Broschard, A. C. Dornbush, S. Gordon, B. L. Hutchings, A. R. Kohler, G. Krupa, S. Kushner, P. V. Le Fennine u. C. Pidacks, *Science* **109**, 199 [1948].

¹²⁾ R. Kuhn u. K. Dury, *B.* **84**, 563 [1951].

¹³⁾ R. Bieling u. H. Heinlein, *Viruskrankheiten des Menschen, Naturforsch. u. Medizin in Deutschland 1939-1946*, S. 67 u. S. 127. *In vitro* konnten J. Finkelstein u. S. M. Linder, *Journ. Amer. chem. Soc.* **71**, 1010 [1949], keine Wirksamkeit gegen Poliomyelitis-Virus feststellen, was im Hinblick auf den „Serum-Effekt“ auch nicht zu erwarten war.

¹⁴⁾ A. Schönberg, R. Moubasher u. A. Mostafa, *Journ. chem. Soc. London* **1948**, 176.

chlorsalicil bindet, die durch Dialyse gegen Wasser nicht entfernt werden können. Ein solcher Symplex vermag im Gegensatz zu Globin nicht mehr mit Häm in unter Rückbildung von Methämoglobin zu kuppeln. Durch Dialyse gegen Boratpuffer von p_H 9 lässt sich jedoch das an Globin gebundene Tetrachlorsalicil wieder ablösen. Von Oxyhämoglobin wird Tetrachlorsalicil nicht gebunden.

Beschreibung der Versuche

5.5'-Dichlor-2,2'-dioxy-benzil: Durch eine Lösung von 0.50 g Salicil in 30 ccm Eisessig wurde 5 Min. bei 20° ein langsamer Chlstrom geleitet. Die nach 12 Stdn. ausgefallenen gelben Nadeln schmolzen nach 2 maligem Umkristallisieren aus Eisessig bei 195–196°.

$C_{14}H_8O_4Cl_2$ (311.0) Ber. C 54.02 H 2.59 Cl 22.80 Gef. C 54.62 H 2.94 Cl 22.64, 23.15

Auf anderem Wege, nämlich durch Benzoin-Kondensation von 5-Chlor-2-methoxybenzaldehyd nach dem Vorbild der von uns aus 5-Brom-2-methoxy-benzaldehyd angegebenen Dibromsalicil-Synthese¹⁾, ist das 5.5'-Dichlor-2,2'-dioxy-benzil inzwischen auch von Buu-Hoi⁴⁾ dargestellt worden.

3.3',5.5'-Tetrachlor-2,2'-dioxy-benzil (II): 20 g Salicil wurden in 500 ccm Eisessig gelöst. Durch diese Lösung leiteten wir 1 Stde. einen kräftigen Strom von Chlor-gas, wobei ein orangegelber Niederschlag auffiel. Nach Stehenlassen über Nacht wurde abgesaugt und aus Eisessig umkristallisiert. Aush. 90% d.Th.; orangegelbe Nadelchen vom Schmp. 207°.

$C_{14}H_8O_4Cl_4$ (379.9) Ber. C 44.23 H 1.59 Cl 37.34 Gef. C 44.51 H 2.10 Cl 37.32, 37.20

Diacetat: 3.8 g Tetrachlorsalicil wurden 45 Min. mit 20 ccm Essigsäureanhydrid unter Rückfluß gekocht. Das in nahezu berechneter Ausbeute erhaltene Diacetat kristallisiert aus Alkohol (unter Zusatz von etwas Tierkohle) in derben farblosen Prismen vom Schmp. 152–153°.

$C_{18}H_{10}O_6Cl_4$ (463.9) Ber. C 46.56 H 2.17 Gef. C 46.50 H 1.99

Dipropionat: Aus Tetrachlorsalicil (3.8 g) und Propionsäureanhydrid (20 ccm) erhält man durch Kochen unter Rückfluß (45 Min.) das Dipropionat, welches aus Alkohol in weißen derben Prismen vom Schmp. 162–162.5° kristallisiert.

$C_{20}H_{14}O_6Cl_4$ (491.9) Ber. C 48.79 H 2.87 Gef. C 49.10 H 3.03

Di-n-butyrat: 3.8 g Tetrachlorsalicil lieferten nach $\frac{3}{4}$ stdg. Kochen mit 20 ccm Buttersäureanhydrid glatt das Dibutyrat; aus Alkohol derbe weiße Prismen, die bei 141–142° schmelzen.

$C_{22}H_{18}O_6Cl_4$ (520.0) Ber. C 50.77 H 3.49 Gef. C 51.19 H 3.39

In ganz entsprechender Weise sind aus I die folgenden Dibromsalicilester erhalten worden:

Diacetat: Farblose Prismen aus Alkohol vom Schmp. 152–153°.

$C_{18}H_{12}O_6Br_2$ (483.9) Ber. C 44.63 H 2.50 Gef. C 44.53 H 2.78

Dipropionat: Aus Alkohol farblose derbe Prismen vom Schmp. 104–105°.

$C_{20}H_{16}O_6Br_2$ (512.0) Ber. C 46.88 H 3.15 Gef. C 46.61, 46.91 H 3.08, 2.99

Di-n-butyrat: Aus Alkohol farblose Prismen vom Schmp. 121–122°.

$C_{22}H_{20}O_6Br_2$ (540.0) Ber. C 48.78 H 3.73 Gef. C 48.54 H 3.45

Dikaliumsalz des Dischwefelsäureesters des Dibromsalicils: Man trägt 10 g I, in 10 ccm Pyridin gelöst, in ein bei 0° bereitetes Gemisch von 10 ccm Pyridin (trocken), 50 ccm Chloroform und 6 g Chlorsulfinsäure ein. Unter Umrühren geht bei langsamem Ansteigen der Temperatur bis auf 45° im Laufe von 1 Stde. die „Anhydroschwefelsäure“ (*N*-Pyridiniumsulfonsäure, $C_6H_5N^+ \cdot SO_3^-$), die nach P. Baumgarten und J. Marggraff¹⁵⁾ „ein nie versagendes Sulfonierungsmittel“ darstellt, in Lösung.

¹⁵⁾ B. 64, 1582 [1931].

Nach Verjagen des Chloroforms i. Vak. bei 45° gibt man 8 ccm konz. Kalilauge hinzu und destilliert das Pyridin i. Vak., zuletzt unter mehrfachem Zusatz von Alkohol, ab. Zur Entfernung von anorganischen Salzen trocknet man den Rückstand scharf über Diphosphorpanoxyd und kocht ihn mit absol. Alkohol aus. Den Rückstand des Alkohol-Auszugs kristallisiert man 2 mal aus absol. Alkohol um. Das so erhaltene Dikaliumsalz stellt ein gelbes, mikrokristallines Pulver dar, das in Wasser leicht löslich ist.

$C_{14}H_8O_{10}Br_2S_2K_2$ (636.2) Ber. C 26.41 H 0.95 K 12.29 Gef. C 26.18 H 2.58 K 12.26

Kondensationsprodukt von 5.5'-Dibrom-2.2'-dioxy-benzil (I) mit 2 Moll. Äthanolamin: 4 g Dibromsalicil wurden in 60 ccm Alkohol mit 1.2 ccm Colamin 30 Min. unter Rückfluß gekocht. Den nach Verdampfen der roten Lösung hinterbliebenen Sirup haben wir durch Lösen in Methanol und Anspritzen mit Wasser zur Kristallisation gebracht. Durch Umkristallisieren aus Methanol + Wasser erhielten wir ocker-gelbe, zu kleinen Drusen vereinigte Nadeln vom Schmp. 182–183°.

$C_{15}H_{18}O_4N_2Br_2$ (486.0) Ber. C 44.44 H 3.73 N 5.76 Gef. C 44.38 H 3.66 N 5.54

3-Oxy-5.6-bis-[o-methoxy-phenyl]-triazin-(1.2.4) (III): 10.8 g 2.2'-Dimethoxy-benzil in 100 ccm Eisessig wurden mit 5.5 g Semicarbazid-hydrochlorid in 15 ccm Wasser versetzt und 3½ Stdn. unter Rückfluß gekocht. Das gebildete Oxytriazin lässt sich durch Wasser ausfällen und aus Eisessig unter Zusatz von Wasser umkristallisieren. Braunstichig gelbe Nadeln vom Schmp. 212°. Die Substanz ist in verd. Natronlauge löslich.

$C_{17}H_{16}O_3N_3$ (309.2) Ber. C 65.99 H 4.89 N 13.60 Gef. C 66.04 H 5.12 N 13.93

Kondensiert man das 2.2'-Dimethoxy-benzil (5 g) mit Semicarbazid-hydrochlorid (4.5 g) und Kaliumacetat (4.5 g) in Alkohol (130 ccm) + Wasser (30 ccm), so wird nach 5stdg. Kochen neben dem alkalilöslichen Oxytriazin das in Alkali unlösliche 2.2'-Dimethoxy-benzil-bis-semicarbazone erhalten, das aus Eisessig unter Zusatz von Wasser in gelben Prismen vom Schmp. 281° kristallisiert.

$C_{18}H_{20}O_4N_6$ (384.2) Ber. C 56.22 H 5.25 N 21.88 Gef. C 56.63 H 5.89 N 21.56

3-Oxy-5.6-bis-[o-oxy-phenyl]-triazin-(1.2.4) (IV): Aus Salicil (9.8 g) und Semicarbazid-hydrochlorid (5.5 g) in 100 ccm Eisessig + 15 ccm Wasser entsteht bei 3½ stdg. Kochen eine tiefrote Lösung, die beim Eingießen in Wasser eine orangefarbene und eine ockergelbe Substanz ausscheidet. Man fällt aus verd. Alkalilauge, in welcher sich fast alles löst, durch Ansäuern um. Durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Eisessig gewinnt man als schwerer lösliche Fraktion die orangefarbene Verbindung in Nadeln vom Schmp. 239–240°, die nach der Analyse das gesuchte Oxytriazin IV darstellt.

$C_{18}H_{14}O_3N_3$ (281.1) Ber. C 64.03 H 3.94 N 14.95 Gef. C 63.87 H 4.02 N 14.76

Die leichter lösliche ockergelbe Fraktion wird mehrfach mit viel Wasser ausgekocht. Den Rückstand erhält man aus Eisessig in gelben Nadeln vom Schmp. 255–257°.

$C_{14}H_{11}O_3N$ (241.1) Ber. C 69.68 H 4.60 N 5.81 Gef. C 69.77 H 4.41 N 5.86

3-Oxy-5.6-bis-[5-brom-2-oxy-phenyl]-triazin-(1.2.4) (V): Die Darstellung erfolgte aus 16 g Dibromsalicil entsprechend den Angaben für die bromfreie Verbindung. Nach Abtrennung einer tiefroten, in Alkalilauge unlöslichen Substanz, die sich beim Abkühlen abschied, wurde in Wasser gegossen und die erhaltene Fällung mehrfach aus Eisessig umkristallisiert. Orangefarbene Nadelchen vom Schmp. 259–260°. Die Substanz ist in Phosphatpuffer von pH 7.2 gut löslich.

$C_{16}H_8O_3N_3Br_2$ (438.9) Ber. C 41.01 H 2.07 N 9.58 Gef. C 41.20 H 2.24 N 9.51

2.3-Bis-[5-brom-2-oxy-phenyl]-5.6-dihydro-pyrazin (VI): 4 g Dibromsalicil wurden in 60 ccm Alkohol mit 1.6 g Äthylendiaminhydrat 30 Min. unter Rückfluß gekocht. Aus der dunkelroten Lösung fiel das Kondensationsprodukt teilweise schon in der Hitze aus. Aus Alkohol orangefarbene, lange Prismen vom Schmp. 203°.

$C_{16}H_{12}O_2N_2Br_2$ (423.9) Ber. C 45.29 H 2.85 N 6.61 Gef. C 45.29 H 2.83 N 6.52

2.3-Bis-[5-brom-2-oxy-phenyl]-chinoxalin (VII): 4 g Dibromsalicil wurden in 100 ccm Eisessig mit 1.4 g o-Phenyldiamin 30 Min. unter Rückfluß

gekocht. Aus der roten Lösung fiel beim Erkalten die Chinoxalin-Verbindung aus. Sie wurde aus Eisessig in orangegelben Nadelchen vom Schmp. 225° erhalten; J. Finkelstein und S. M. Linder¹⁶⁾ geben 216–219° an.

$C_{20}H_{12}O_2N_2Br_2$ (471.9) Ber. C 50.85 H 2.56 N 5.94 Gef. C 51.06 H 2.72 N 5.78

Weiße Diacetyl-Verbindung: Beim Kochen des Chinoxalins VII (1 g) mit Eisigsäureanhydrid (5 ccm) verschwindet bald die gelbe Farbe. Aus Alkohol derbe weiße Prismen vom Schmp. 193–194°.

$C_{24}H_{16}O_4N_2Br_2$ (556.0) Ber. C 51.80 H 2.90 N 5.04 Gef. C 52.17 H 3.04 N 4.97

Gelbe Diacetyl-Verbindung: 4.8 g 5.5'-Dibrom-2.2'-dioxy-benzildiacetat (Schmp. 152–153°) und 1.4 g o-Phenyldiamin wurden in 40 ccm Eisessig 45 Min. unter Rückfluß gekocht. Den Eisessig haben wir i. Vak. verdampft und den Rückstand mit Alkohol verrührt. Dabei erhielten wir eine Kristallisation, die sich als unverändertes Diacetat (Schmp. und Misch-Schmp. 152–153°) erwies. Aus der alkohol. Mutterlauge schieden sich langsam gelbe Kristalle ab, die nach dem Umlösen aus Alkohol gelbe Prismen vom Schmp. 147–148° darstellten.

$C_{24}H_{16}O_4N_2Br_2$ (556.0) Ber. C 51.80 H 2.90 N 5.04 Gef. C 51.38 H 3.02 N 5.20

Umlagerung der gelben in die weiße Diacetyl-Verbindung: 50 mg gelbes Diacetat wurden in 5 ccm Eisessig 1 Stde. unter Rückfluß gekocht, wobei die Farbe verschwand. Die Aufarbeitung ergab weiße Prismen vom Schmp. und Misch-Schmp. 193–194°.

Verseifung der gelben und der weißen Diacetyl-Verbindung: Beide Diacetate gehen beim Kochen (10 Min.) mit 2 n NaOH mit gelber Farbe in Lösung. Durch Ansäuern erhält man ein und dieselbe Chinoxalin-Verbindung vom Schmp. und Misch-Schmp. 225°.

Kondensation von 5.5'-Dibrom-2.2'-dioxy-benzil mit *p*-Phenetidin (VIII): 4 g Dibromsalicil werden mit 3 ccm *p*-Phenetidin (2.2 Moll.) unter Rühren im Ölbad auf 180° erhitzt. Der Brei wird zunächst dünnflüssig und erstarrt nach etwa 20 Min. zu einem orangefarbenen Kristallkuchen, den man durch Digerieren mit heißem Alkohol von unveränderten Ausgangskomponenten befreit. Durch Umkristallisieren aus Eisessig oder aus Benzol erhält man orangegelbe Blättchen vom Schmp. 245–247°. Bei etwa 100° färben sich die Kristalle im Schmelzpunktströhren orangefarben. In Alkohol ist die Substanz nahezu unlöslich. Auf Grund der Analysen liegt ein Kondensationsprodukt von 1 Mol. Diketon mit 2 Moll. Amin vor, das unter Austritt von 2 Moll. Wasser entstanden ist, das aber noch geringe Mengen des Kondensationsprodukts von 1 Mol. Diketon mit 1 Mol. Amin enthält.

$C_{32}H_{17}O_4N_2Br_2$ (619.0) Ber. C 50.87 H 3.30 N 2.70 Br 30.78 Gef. C 55.55 H 3.99
 $C_{30}H_{25}O_4N_2Br_2$ (638.1) Ber. C 56.42 H 4.11 N 4.39 Br 25.05 N 3.94 Br 27.23

Kupplung von 3.3'.5.5'-Tetrachlor-salicil mit Globin: Das verwendete Globin war aus kristallisiertem Rinder-Oxyhämoglobin dargestellt¹⁶⁾. Die Tetrachlor-Verbindung wurde wegen der günstigeren Löslichkeitseigenschaften an Stelle der Dibromverbindung angewandt.

680 mg Globin (10^{-5} Mol.) wurden in 10 ccm Wasser gelöst und mit Natriumcarbonat auf p_H 9 gebracht. Dazu gaben wir 5 ccm einer Lösung von 8 mg Tetrachlorsalicil (2×10^{-5} Mol) in Wasser, das durch 2 n Na_2CO_3 gleichfalls auf p_H 9 gebracht war. Daraufhin wurde in einem Cellophanschlauch bei +4° im Kühlschrank 5 Tage gegen Wasser von p_H 9 dialysiert. Die Lösung im Schlauch blieb tief gelb; an die Außenlösung wurde kein Tetrachlorsalicil abgegeben. Im Kontrollversuch ohne Globin dialysierte die gesamte Tetrachlorverbindung durch das Cellophane in die Außenlösung.

Wurden mehr als 2 Moll. 3.3'.5.5'-Tetrachlor-salicil auf 1 Mol. Globin angewandt, so ließ sich der Überschuss durch Dialyse leicht entfernen. Das an Globin gebundene Tetrachlorsalicil geht in die Außenlösung, wenn man gegen verd. Boratpuffer von p_H 9 dialysiert. Der Symplex wird also durch Borat zerlegt.

¹⁶⁾ L. Birkofe u. A. Taurins, Ztschr. physiol. Chem. 265, 94 [1940].

90 mg krist. Oxyhämoglobin (Rind) und 1 mg Tetrachlorsalicil, beides in Wasser von p_H 9 gelöst, gaben beim Dialysieren (Cellophanschlauch) das gesamte gelbe Diketon an die Außenlösung ab. Im Gegensatz zu Globin vermag also Oxyhämoglobin nicht zu kupplen.

Verhalten des Symplexes gegen Hämin: Eine aus 170 mg Globin und Tetrachlorsalicil gewonnene dialysierte Symplex-Lösung wurde bei p_H 9 mit 6.5 mg Hämin in verd. Natriumcarbonat-Lösung (p_H 9) versetzt. Selbst nach 5 Tagen (+4°) war in der Außenlösung weder Hämin noch Tetrachlorsalicil feststellbar. Die Innenlösung zeigte nach dem Ansäuern auf p_H 4.2 im Gittermeßspektroskop (Loewe-Schumm) eine Absorptionsbande bei 640 $\mu\mu$, während im Parallelversuch aus dem gleichen Globin und Hämin resynthetisiertes Methämoglobin die bekannte Bande bei 630 $\mu\mu$ zeigte. Es war somit eine Rotverschiebung von 10 $\mu\mu$ festzustellen.

Sowohl der Hämin-Tetrachlorsalicil-Globin-Symplex als auch das resynthetisierte Methämoglobin wurden bei p_H 9 mit Natriumdithionit reduziert und mit Luft geschüttelt. Der reduzierte Hämin-Tetrachlorsalicil-Globin-Symplex ließ nur ein sehr verwaschenes Absorptions-Spektrum erkennen. Das reduzierte Methämoglobin zeigte die charakteristischen Oxyhämoglobinbanden bei 576 und 541 $\mu\mu$. Hämin vermag demnach das an Globin gebundene Tetrachlorsalicil nicht zu verdrängen.

Wirkung auf *Staphylococcus aureus*: Hrn. Dr. E. F. Möller verdanken wir die folgenden Werte (Tafel 1 und 2). Diese geben an, wieviel g/ccm der einzelnen Substanzen erforderlich waren, um das Wachstum von St mm K 311, Stamm KiAu usw. in Pepton-Nährlösung bei 28° völlig zu unterdrücken.

Tafel 1. Wachstumshemmung bei *Staphylococcus aureus* Stamm K 311, KiAu und BlAu

Stamm	Name der Substanz	Totale Hemmung nach	
		2 Tagen	4 Tage
v. R.	2.2'-Dioxy-benzil	6.0×10^{-5}	$>2.5 \times 10^{-3}$
K 311	5.5'-Dichlor-2.2'-dioxy-benzil	2.5×10^{-3}	2.5×10^{-5}
KiAu	3.3'.5.5'-Tetrachlor-2.2'-dioxy-benzil	0.5×10^{-6}	1.0×10^{-3}
KiAu	3.3'.5.5'-Tetrachlor-2.2'-dioxy-benzil-diacetat	6.6×10^{-6}	8.0×10^{-6}
KiAu	3.3'.5.5'-Tetrachlor-2.2'-dioxy-benzil-dipropionat	1.3×10^{-7}	1.7×10^{-8}
KiAu	3.3'.5.5'-Tetrachlor-2.2'-dioxy-benzil-dibutyrat	6.6×10^{-6}	—
KiAu	5.5'-Dibrom-2.2'-dioxy-benzil	1.0×10^{-3}	4.0×10^{-6}
KiAu	5.5'-Dibrom-2.2'-dioxy-benzil-diacetat	2.0×10^{-6}	4.0×10^{-6}
KiAu	5.5'-Dibrom-2.2'-dioxy-benzil-dipropionat	1.0×10^{-6}	8.0×10^{-6}
KiAu	5.5'-Dibrom-2.2'-dioxy-benzil-dibutyrat	1.0×10^{-6}	8.0×10^{-6}
K 311	5.5'-Dibrom-2.2'-dioxy-benzil-dischweifelsaures Kalium	2.0×10^{-3}	4.0×10^{-3}
BlAu	5.5'-Dibrom-2.2'-dimethoxy-benzil	—	$\sim 2.5 \times 10^{-4}$
BlAu	5.5'-Dibrom-2.2'-diäthoxy-benzil	—	$>2.5 \times 10^{-4}$
KiAu	Verb. aus 5.5'-Dibrom-2.2'-dioxy-benzil mit 2 Moll. Colamin	4.0×10^{-6}	8.0×10^{-6}
K 311	3-Oxy-5.6-bis-[o-oxy-phenyl]-triazin-(1.2.4)	$>2.5 \times 10^{-4}$	$>2.5 \times 10^{-4}$
K 311	3-Oxy-5.6-bis-[5-brom-2-oxy-phenyl]-triazin-(1.2.4)	3×10^{-8}	1×10^{-4}
K 311	2.3-Bis-[5-brom-2-oxy-phenyl]-5.6-dihydro-pyrazin	$>1 \times 10^{-6}$	$>1 \times 10^{-4}$
K 311	2.3-Bis-[5-brom-2-oxy-phenyl]-chinoxalin	1×10^{-5}	2×10^{-4}

Die N-haltigen Derivate sind mit und ohne Zusatz von Serum getestet worden (Tafel 2). Je Röhrchen wurden 0.4 ccm Menschenserum auf ein Gesamtvolumen von 6 ccm angewandt; Versuchsdauer je 4 Tage.

Tafel 2. Wachstumshemmung durch N-haltige Derivate mit und ohne Zusatz von Serum bei *Staphylococcus* Stamm BlAu

Stamm	Name der Substanz	Totale Hemmung	
		ohne Serum	mit Serum
BlAu	5.5'-Dibrom-2.2'-dioxy-benzil	1×10^{-6}	3.4×10^{-5}
BlAu	Verb. aus 5.5'-Dibrom-2.2'-dioxy-benzil mit 2 Moll. Colamin	2×10^{-6}	6.8×10^{-5}
BlAu	3-Oxy-5.6-bis-[5-brom-2-oxy-phenyl]-triazin-(1.2.4)	3.4×10^{-5}	$>2.5 \times 10^{-4}$
BlAu	2.3 Bis-[5-brom-2-oxy-phenyl]-5.6-dihydro-pyrazin	3.4×10^{-5}	$>2.5 \times 10^{-4}$
BlAu	2.3 Bis-[5-brom-2-oxy-phenyl]-chinoxalin	2.5×10^{-4}	$>2.5 \times 10^{-4}$

Farbreaktionen mit konz. Schwefelsäure: Beim Übergießen mit konz. Schwefelsäure färben sich

Benzil	rotviolett
2.2'-Dioxy-benzil (Salicil)	braun
2.2'-Dimethoxy-benzil	gelbrot
5.5'-Dichlor-2.2'-dioxy-benzil	tief blau
5.5'-Dibrom-2.2'-dioxy-benzil	tief blau
5.5'-Dibrom-2.2'-dimethoxy-benzil	gelbrot
5.5'-Dibrom-2.2'-diethoxy-benzil	gelbrot
Verb. aus 5.5'-Dibrom-salicil mit 2 Moll. Colamin	gelb
3-Oxy-5.6-bis-[o-oxy-phenyl]-triazin-(1.2.4)	gelbrot
3-Oxy-5.6-bis-[5-brom-2-oxy-phenyl]-triazin-(1.2.4)	rot
2.3 Bis-[5-brom-2-oxy-phenyl]-5.6-dihydro-pyrazin	kirschrot
2.3 Bis-[5-brom-2-oxy-phenyl]-chinoxalin	braun
3.3', 5.5'-Tetrachlor-2.2'-dioxy-benzil	gelb
4.4'-Dichlor-2.2'-dioxy-benzil	rot

Es fällt auf, daß nur 5.5'-Dichlor- und 5.5'-Dibrom-salicil eine tief blaue Farbreaktion geben.

103. Wilhelm Treibs und Irmgard Lorenz: Über Sulfonsäuren von Terpenen u. Sesquiterpenen, III. Mitteil.*): Eine neue Darstellungsweise des Camphensultons und dessen thermische Zersetzung zum Camphenen

[Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Leipzig]
(Eingegangen am 10. Mai 1951)

Das von P. Lipp und Y. Asahina aus Camphen dargestellte Camphensulton entsteht in guter Ausbeute durch Sulfonieren von Isoborneol nach der Methode von M. A. Reyhler; seine thermische Zersetzung liefert einen bicyclischen Kohlenwasserstoff mit zwei Doppelbindungen, das Camphenen.

Außer dem in der I. Mitteilung*) beschriebenen kristallisierten Pulegon-sulton, dessen thermische Zersetzung unter Schwefeldioxyd-Abspaltung Men-thofuran liefert, sind in der Terpenreihe noch drei weitere Sultone, ein Sulton

*) I. Lorenz, Doktordissertat., Leipzig 1951; I. Mitteil.: W. Treibs, B. 70, 85 [1937]; II. Mitteil.: W. Treibs u. I. Lorenz, B. 82, 400 [1949]; I. Lorenz, Diplomarbeit, Leipzig 1949.