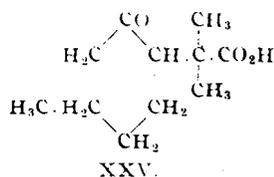
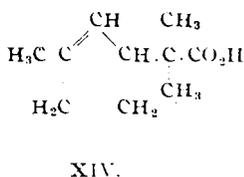
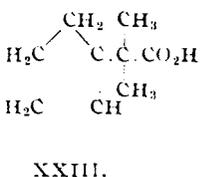
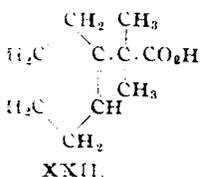
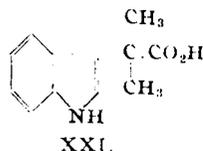
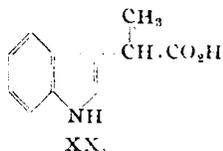


säure]-(1) (XXIII)²¹), 1-Methyl-cyclopenten-(1)-[α -isobuttersäure]-(3. oder 5) (XXIV)¹⁸) und 1-Methyl-cyclohexanon-(3)-[α -isobuttersäure]-(4)²²) (XXV).



Die Wirkung aller dieser Stoffe gegenüber der Wentschen Probe erwies sich als völlig negativ; man muß also annehmen, daß unabhängig von der Natur des Ringes die Gegenwart zweier Substituenten am selben Kohlenstoffatom in der Seitenkette das Auftreten einer primären Wachstumsaktivität verhindert, auch wenn den sonstigen Strukturerefordernissen Genüge getan ist.

Die von F. Kögl²³) ausgesprochene Hypothese einer selektiven Adsorption der aktiven Substanz durch das Protein-Molekül gewinnt im Zusammenhang hiermit immer größere Wahrscheinlichkeit. Es ist so auch leicht verständlich, wieso Substituenten im Kern und in der Seitenkette hindernd wirken können und daß die Aktivität der substituierten Säuren zum Verschwinden gebracht wird durch die Gegenwart solcher Gruppen, die das notwendige Annähern der aktiven Gruppen an die adsorbierenden Proteine verhindern²⁴).

62. Richard Kuhn, Ernst Friedrich Möller und Gerhard Wendt: Über 4.4'-Diamino-benzil und seine Einwirkung auf Bakterien.

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

(Eingegangen am 15. Februar 1943.)

Das durch Kondensation von Benzoin mit Harnstoff leicht erhältliche 4,5-Diphenyl-glyoxalon¹) liefert bei der Nitrierung mit rauchender Salpetersäure und konz. Schwefelsäure 4.4'-Dinitro-benzil²). Die Aufgabe, in diesem Diketon nur die beiden Nitrogruppen zur Aminostufe zu reduzieren, die

²¹) O. Wallach u. K. Fleischer, A. **353**, 305 [1907].

²²) R. W. L. Clarke u. A. Lapworth, Journ. chem. Soc. London **89**, 1874 [1906].

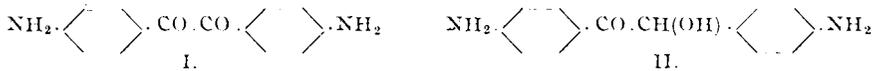
²³) Naturwiss. **25**, 465 [1937].

²⁴) A. Gandini, Atti R. Accad. Lig. Sci. Lettere, Parte II, 56 [1942].

¹) H. Biltz, A. **339**, 265 [1905]; **368**, 173, Fußn. [1909].

²) H. Biltz, A. **368**, 262, Fußn. [1909]; F. D. Chattaway u. E. A. Coulson, Journ. chem. Soc. London **1928** I, 1361.

beiden Carbonyle aber intakt zu lassen, war schwierig. Zum Ziel führte die Anwendung von Ferrohydroxyd (Ferro-sulfat + Ammoniak) sowie die katalytische Hydrierung mit gewissen Nickelkontakten. Auch so ließ sich die Bildung von 4,4'-Diamino-benzoin nicht völlig unterdrücken. Das 4,4'-Diamino-benzil (I) krystallisiert in chromgelben, geschwungenen Nadelchen vom Schmp. 169°, die sich auf Grund ihrer geringeren Löslichkeit in Wasser von den farblosen, derben Nadeln des 4,4'-Diamino-benzoins (II), das bei 199° schmilzt, gut trennen lassen.



Unter den schwefelfreien Verbindungen mit Sulfonamidwirkung³⁾ stand bisher das 4,4'-Diamino-benzophenon an der Spitze. Es war allerdings etwa 10-mal weniger wirksam als Sulfanilamid. Wenn nun die Vorstellung richtig war, daß die Sulfonamide in den Bakterien den Platz der *p*-Amino-benzoesäure besetzen ohne deren Funktion ausüben zu können⁴⁾, so schien es möglich, daß das 4,4'-Diamino-benzil auf Grund der noch größeren Ähnlichkeit seiner molekularen Gestalt mit der des natürlichen Wuchsstoffes das Diaminobenzophenon übertreffen und unter Umständen an das in die Therapie eingeführte 4,4'-Diamino-diphenylsulfon heranreichen werde. Geprüft haben wir das neue Diketon an Staphylokokken, die auf Diaminodiphenylsulfon verhältnismäßig schlecht ansprechen, und an Milchsäurebakterien, bei denen das Diaminodiphenylsulfon alle anderen Sulfonamide überragt³⁾. Die vorliegenden quantitativen Vergleiche führen zu folgendem Bild:

Das 4,4'-Diamino-benzil ist bei *Staphylococcus pyogenes aureus* (Stamm *vR*) etwa 2-mal wirksamer als Sulfanilamid und als Diaminodiphenylsulfon, wenn man die Konzentrationen in g/ccm vergleicht, die nötig sind, um das Wachstum auf 50% des maximalen Wertes herabzudrücken; es ist etwa 4-mal wirksamer als Sulfanilamid, wenn man die zur völligen Unterdrückung des Wachstums erforderlichen Mengen vergleicht; die Wirksamkeit von Sulfathiazol, der Spitzensubstanz für diesen Staphylokokkenstamm, wird nicht ganz erreicht.

Bei den untersuchten Milchsäurebakterien (*Streptobacterium plantarum* Stamm 10 S I. G.) ist das 4,4'-Diamino-benzil 4—6-mal besser als Sulfanilamid, d. h. ebenso wirksam wie Sulfapyridin und Sulfathiazol; es wird vom 4,4'-Diamino-diphenylsulfon nur noch 2—3-mal übertroffen. Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die Aktivität des Diaminobenzophenons durch Einschaltung einer zweiten Carbonylgruppe zwischen die Benzolkerne *mindestens 30-mal stärker* wird. Für die zahlreichen Versuchsreihen, die durchgeführt wurden, geben Abbild. 1 und 2 je ein Beispiel.

p-Amino-benzoesäure hebt die durch 4,4'-Diamino-benzil bewirkte Hemmung auf (Abbild. 3). Das gelbe Diketon ist so wie die typischen Sulfonamide ein Antagonist dieses Wuchsstoffes. Im direkten H'-Test geprüft,

³⁾ R. Kuhn, E. F. Möller, G. Wendt u. H. Beinert, B. 75, 711 [1942]; E. Auhagen, Ztschr. physiol. Chem. 274, 48 [1942].

⁴⁾ Vergl. R. Kuhn, Chemie 55, 1 [1942].

waren 10^{-6} bis 2.5×10^{-4} g/ccm 4,4'-Diamino-benzil ohne Wachstumswirkung.

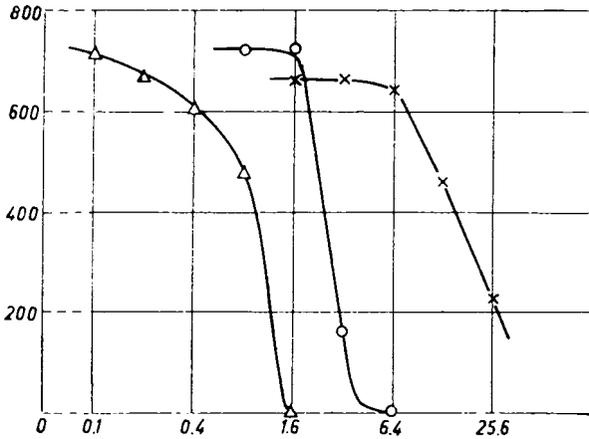


Abbildung 1. Hemmung des Wachstums von Milchsäurebakterien (*Streptococcus lactis*) durch

—△—△— 4,4'-Diamino-diphenylsulfon, —○—○— 4,4'-Diamino-benzil,
—×—×— Sulfanilamid.

Abszissen: ccm $\frac{1}{2580}$ -proz. Lösungen der 3 Substanzen in 6 ccm Nährlösung, die 2×10^{-6} g/ccm an *p*-Amino-benzoesäure enthielt. Ordinaten: Trübungswerte (Extinktionswerte $\times 1000$, Lange-Photometer) nach 48 Stdn. bei 28°.

cis- und *trans*-4,4'-Diamino-stilben⁶⁾ bewirkten in Mengen von 10^{-6} bis 10^{-4} g/ccm keine Hemmung, während mit je 2×10^{-4} g/ccm 4,4'-Dinitrostilben und 4,4'-Dinitrotolan das Wachstum um 50% herabgesetzt werden

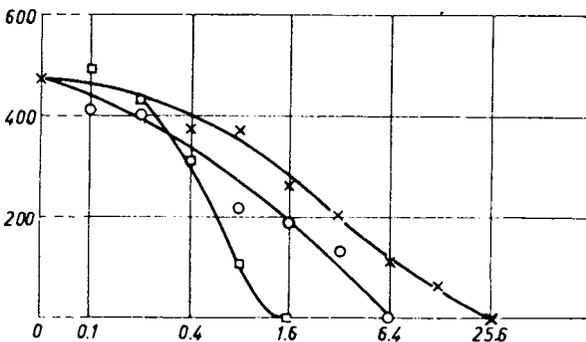
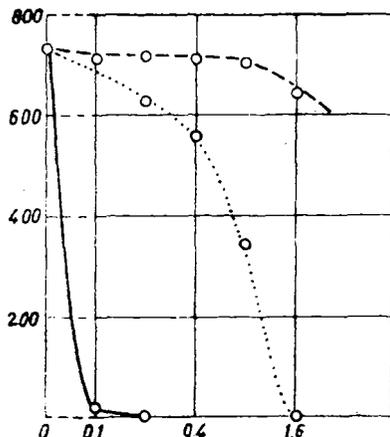


Abbildung 2. Hemmung des Wachstums von *Staphylococcus pyogenes aureus* (Stamm *vR*) durch —○—○— 4,4'-Diamino-benzil, —□—□— Sulfathiazol und —×—×— Sulfanilamid.

Abszissen: ccm $\frac{1}{180}$ -proz. Lösungen auf 6 ccm. Ordinaten: Trübungswerte nach 48 Stdn. (28°).

⁶⁾ Dargestellt nach P. Ruggli u. F. Lang, Helv. chim. Acta **19**, 996 [1936].

konnte (Sbm. plant., 2×10^{-9} g/ccm *p*-Amino-benzoesäure). Von 4,4'-Diamino-desoxybenzoin⁶⁾ waren zur Erzielung des gleichen Effektes



Abbild. 3. Entthemmung.

—○—○— 2×10^{-9} g/ccm *p*-Amino-benzoesäure,○..... 2×10^{-8} g/ccm *p*-Amino-benzoesäure, -○-○- 1.66×10^{-7} g/ccm *p*-Amino-benzoesäure.

Abzisse: ccm $\frac{1}{1000}$ -proz. Lösung von 4,4'-Diamino-benzil auf 6 ccm; Sbm. plant.; 96 Stdn., 28°

3.3×10^{-4} g/ccm erforderlich. Die Vergleichszahl für 4,4'-Diamino-benzil ist mehr als 1000-mal kleiner, nämlich 1.5×10^{-7} g/ccm, woraus die Spezifität des Diketons erhellt.

Von den geprüften Derivaten des 4,4'-Diamino-diphenyläthans war nur noch das Benzoin (II) bei kurzen Versuchszeiten dem Benzil (I) als Hemmstoff vergleichbar. Mit zunehmender Wachstumsdauer war jedoch beim 4,4'-Diamino-benzoin eine erstaunliche Abnahme des Wirkungsvermögens festzustellen (Abbild. 4). In geringem Ausmaß ist eine derartige Erscheinung auch beim 4,4'-Diamino-benzil, Sulfanilamid und anderen Sulfonamiden regelmäßig zu beobachten. Der am 4,4'-Diamino-benzoin festgestellte Effekt der „Selbstenthemmung“ ist aber um 2—3 Zehnerpotenzen größer. Während im Falle des Diketons I und Sulfanilamids (Abbild. 5) die für 50% Hemmung erforderlichen Mengen sich beim Übergang von 48 zu 96 Stdn. Wachstumsdauer verdoppeln, steigen sie im Falle des Benzoins (II) auf den 300-fachen Wert. Wir vermuten, daß diese Erscheinung auf Bildung von *p*-Amino-benzoesäure aus *p,p'*-Diamino-benzoin im Laufe des Versuchs zurückzuführen sein wird. Die Autoxydation von Benzoin unter Bildung von Benzoesäure, die vorzugsweise in alkalischer Lösung eintritt, ist bereits Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen⁷⁾. In unserer Nährlösung sind Eisen- und Mangansalze enthalten, die vielleicht bei der Bildung von *p*-Amino-benzoesäure aus dem Benzoin mitwirken. Das in Abbild. 4 dargestellte Phänomen

⁶⁾ Dargestellt nach P. Ruggli u. F. Lang, Helv. chim. Acta **21**, 38 [1938].

⁷⁾ Vergl. z. B. A. Weißberger, H. Mainz u. E. Strasser, B. **62**, 1942 [1929]; A. Weißberger, A. Dörken u. W. Schwarze, B. **64**, 1200 [1931].

kommen beständig zu sein und nicht in *p*-Amino-benzoesäure überzugehen; die Wachstumskurven verschieben sich mit zunehmender Versuchsdauer nur sehr wenig und schneiden nach der Abszisse zu scharf ab. 4,4'-Diamino-hydrobenzoin, $\text{NH}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{CH}(\text{OH}) \cdot \text{CH}(\text{OH}) \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{NH}_2$, war von 10^{-6} bis 2.5×10^{-4} g/ccm ohne hemmende Wirkung. Alle in dieser Mitteilung geprüften Substanzen waren in wäßriger Lösung höchstens 5 Min. gekocht worden, bevor sie der folgenden, bei 100° im Dampftopf $\frac{1}{2}$ Stde. sterilisierten Nährlösung, unter sterilen Bedingungen zugesetzt wurden. Die Konzentration an *p*-Amino-benzoesäure ist bei den einzelnen Abbildungen angegeben.

Zusammensetzung der Nährlösung für *Strept. plantarum*.

	Konzentration im Versuch (g ccm)
Ammoniumsulfat (Merck, p. a.)	0.5×10^{-2}
Natriumacetat + $3\text{H}_2\text{O}^{**}$	1.38×10^{-2}
Dinatriumphosphat + $2\text{H}_2\text{O}$ (Merck 6580)	1.25×10^{-3}
Monokaliumphosphat (nach Sörensen, Kahlbaum)	0.83×10^{-3}
Magnesiumsulfat + $7\text{H}_2\text{O}$ (Merck 5882)	0.42×10^{-3}
Ferricitrat (Merck, DAB 6)	4.20×10^{-5}
ManganII-chlorid + $4\text{H}_2\text{O}$ (Merck 5926)	1.25×10^{-5}
Glucose (Merck 8341)*	2.0×10^{-2}
<i>l</i> -Cystein-hydrochlorid (natürl., Hoffmann-La Roche)	4.2×10^{-5}
<i>d,l</i> -Methionin (synthet., Hoffmann-La Roche)**	0.5×10^{-4}
Glykokoll (synthet., H. Stocker)**	5.0×10^{-4}
<i>d,l</i> -Alanin (synthet., H. Stocker)**	5.0×10^{-4}
<i>d,l</i> -Valin (synthet., H. Stocker)**	1.0×10^{-4}
<i>d,l</i> -Leucin (synthet., H. Stocker)**	1.0×10^{-4}
<i>d,l</i> -Isoleucin (synthet., H. Stocker)**	1.0×10^{-4}
<i>d,l</i> -Phenylalanin (synthet., H. Stocker)**	1.0×10^{-4}
<i>l</i> -Tryptophan (natürl., Hoffmann-La Roche)**	0.5×10^{-4}
<i>d,l</i> -Asparaginsäure (synthet., H. Stocker)**	5.0×10^{-4}
<i>d,l</i> -Glutaminsäure (synthet., H. Stocker)**	5.0×10^{-4}
<i>l</i> -Argininnitrat (Hoffmann-La Roche)**	0.5×10^{-4}
Aneurinchlorid-hydrochlorid (synthet., I. G. Elberfeld)	1.0×10^{-7}
Adermin-hydrochlorid (synthet., I. G. Elberfeld)	2.0×10^{-6}
Nicotinsäure (aus Nicotin, Heyl & Co.)***	1.7×10^{-7}
Adeninsulfat (Hoffmann-La Roche)**	4.3×10^{-5}
Biotinmethylester kryst. (Kögl, Utrecht)	2×10^{-9}
<i>d,l</i> -pantothensaures Natrium (synthet., Hoffmann-La Roche)	4×10^{-7}

mit NaOH (p. a. Merck) auf pH 6.4 bis 6.6 einstellen.

*) Nach Aufkochen mit 1% Carbo act. sicc. (Merck) in wässr. hochkonz. Lösung, durch Zugabe von mit Petroläther vergälltem Alkohol bis zu einem Gehalt von 70 Vol.-% bei -20° umkristallisiert und erst über H_2SO_4 bei Zimmertemp., dann über P_2O_5 bei 100° im Vak. getrocknet.

**) Nach Aufkochen mit 1% Carbo act. sicc. (Merck) aus wässr. Lösung umkristallisiert und im Vak. über P_2O_5 bei Zimmertemp. getrocknet.

***) 2-mal bei rund 0.1 mm sublimiert, einmal mit 1% Carbo act. sicc. (Merck) aus Wasser umkristallisiert und über P_2O_5 bei 100° im Vak. getrocknet.

Zusammensetzung der Nährlösung für *Staph. aureus*.

	Konzentration im Versuch (g/ccm)
Monokaliumphosphat (Sörensen, Kahlbaum).....	0.45×10^{-2}
Magnesiumsulfat + $7H_2O$ (Merck 5882)	0.42×10^{-3}
Ferricitrat (Merck, Erg. B. 5)	0.42×10^{-4}
Mangan II-chlorid + $4H_2O$ (Merck 5926).....	1.25×10^{-5}
Glucose (Merck 8341)*)	2.0×10^{-2}
<i>l</i> -Cystein-hydrochlorid (natürl., Hoffmann-La Roche)	0.42×10^{-4}
<i>d,l</i> -Methionin (synthet., Hoffmann-La Roche)**)	0.5×10^{-4}
Glykokoll (synthet., Stocker)**)	5.0×10^{-4}
<i>d,l</i> -Alanin (synthet., Stocker)**)	5.0×10^{-4}
<i>d,l</i> -Valin (synthet., Stocker)**)	1.0×10^{-4}
<i>d,l</i> -Leucin (synthet., Stocker)**)	1.0×10^{-4}
<i>d,l</i> -Isoleucin (synthet., Stocker)**)	1.0×10^{-4}
<i>d,l</i> -Phenylalanin (synthet., Stocker)**).....	1.0×10^{-4}
<i>l</i> -Tryptophan (natürl., Hoffmann-La Roche)**)	0.5×10^{-4}
<i>d,l</i> -Asparaginsäure (synthet., Stocker)**).....	5.0×10^{-4}
<i>d,l</i> -Glutaminsäure (synthet., Stocker)**)	5.0×10^{-4}
<i>l</i> -Arginin nitrat (Hoffmann-La Roche)**).....	0.5×10^{-4}
<i>l</i> -Lysin-dihydrochlorid (Hoffmann-La Roche).....	1.0×10^{-4}
<i>d,l</i> -Prolin (Hoffmann-La Roche)	1.0×10^{-4}
<i>l</i> -Oxyprolin (Schuchardt)	1.0×10^{-4}
<i>l</i> -Histidin-monohydrochlorid H_2O	1.0×10^{-4}
<i>l</i> -Tyrosin (Merck 8371)	1.0×10^{-4}
Aneurinchlorid-hydrochlorid (synthet. I. G.)	1.0×10^{-7}
Nicotinsäure (aus Nicotin, Heyl & Co.).....	1.7×10^{-7}
Biotinmethylester (Kögl, Utrecht)	2.0×10^{-9}
mit NaOH (p. a. Merck) auf pH 7.4—7.7 eingestellt (pH nach Sterilisieren 7.1—7.3.).	

*) S. Fußnoten voranstehender Tafel. ***) S. Fußnoten voranstehender Tafel.

***) S. Fußnoten voranstehender Tafel.

Beschreibung der Versuche.

4.4'-Diamino-benzil (I).

Das durch Hydrierung von 4.4'-Dinitro-benzil (Schmp. 214⁰) gewonnene Produkt (Basengemisch) wird aus ~1000 Teilen siedendem Wasser umkrystallisiert. Das ausgefallene 4.4'-Diamino-benzil soll noch heiß, bei etwa 60⁰, abgesaugt werden. Bei stärkerer Abkühlung scheidet sich leicht 4.4'-Diaminobenzoin mit aus, dessen Anwesenheit (farblose Nadeln) man im Mikroskop erkennt. Die Krystallisationsverhältnisse sind vom Verlauf der Hydrierung etwas abhängig. Das reine 4.4'-Diamino-benzil krystallisiert in charakteristisch geschwungenen gelben Nadelchen vom Schmp. 169⁰.

$C_{14}H_{12}O_2N_2$ (240.1). Ber. C 69.97, H 5.04, N 11.66.
Gef. „ 69.99, 70.06, „ 4.97, 5.21, „ 11.57.

Aus der Lösung des Diamins in absol. Alkohol (je 48 mg in 6 ccm) schied sich auf Zusatz von 0.2 ccm *n*-HCl kein Hydrochlorid ab, nach Zugabe von 0.2 ccm *n*-H₂SO₄ krystallisierte dagegen das Sulfat in Nadeln aus. Die Analyse, zu der 1 Stde. bei 100° (2 mm) getrocknet wurde, ergab der Formel C₁₄H₁₂O₂N₂, H₂SO₄ entsprechende Werte. Auch das Sulfat ist in Wasser nur wenig löslich.

C₁₄H₁₄O₂N₂SO₄ (338.1). Ber. C 49.69, H 4.17, N 8.28. Gef. C 49.77, H 4.30, N 8.01.

Die *N,N'*-Diacetyl-Verbindung wurde durch 1-stdg. Erhitzen von 0.20 g Diamin mit 2 ccm Essigsäureanhydrid und 5 ccm Pyridin auf 100° erhalten. Sie schmolz nach 3-maliger Krystallisation aus Aceton-Wasser bei 251° (l. Th.).

C₁₈H₁₆O₄N₂. Ber. C 66.65, H 4.97, N 8.64.
Gef. „ 66.61, 66.71, „ 5.21, 5.19, „ 8.55, 8.42.

Mit *o*-Phenylendiamin (45 mg) kondensiert sich das Diaminobenzil (100 mg) in Eisessig (25 ccm) beim kurzen Aufkochen zu einem bei 267–268° (l. Th.) schmelzenden Chinoxalin-Derivat, woraus die Unversehrtheit beider Ketogruppen folgt. Zur Isolierung wurde der Eisessig verjagt, mehrmals mit Alkohol nachverdampft und aus Aceton-Wasser umkrystallisiert.

C₂₀H₁₆N₄ (312.1). Ber. C 76.90, H 5.16, N 17.94. Gef. C 77.03, H 5.37, N 17.90.

4.4'-Diamino-benzoin (II).

Diese Verbindung wurde zunächst als Nebenprodukt bei der Darstellung des 4.4'-Diamino-benzils, später durch katalyt. Hydrierung von reinem 4.4'-Diamino-benzil erhalten. Sie stellt breite Nadeln oder Stäbchen dar, die auch in dicker Schicht nahezu farblos erscheinen. Schmp. 199°.

C₁₄H₁₄O₂N₂ (242.1). Ber. C 69.39, H 5.83, N 11.57. Gef. C 69.38, H 5.75, N 11.30.

Das aus Alkohol auf Zusatz von *n*-H₂SO₄ krystallisierende Sulfat ergab bei der Analyse:

C₁₄H₁₄O₂N₂·H₂SO₄ (340.1). Ber. C 49.40, H 4.73, N 8.23. Gef. C 49.53, H 4.73, N 8.10.

4.4'-Diamino-hydrobenzoin, NH₂·C₆H₄·CH(OH)·CH(OH)·C₆H₄·NH₂.

Die katalytische Hydrierung von 4.4'-Diamino-benzoin mit Platinoxid in Methanol lieferte nach Aufnahme von 1 Mol. H₂ ein 4.4'-Diamino-hydrobenzoin, von dem noch unbekannt ist, ob es sich um die *d,l*- oder *meso*-Form handelt. Man fällt die eingeeengte Methanollösung mit Benzin und sublimiert vorsichtig unter 0.002 mm (130–145°). Schmp. 244–245°.

C₁₄H₁₆O₂N₂ (244.1). Ber. C 68.82, H 6.61. Gef. C 68.81, H 6.79.

Die Substanz krystallisiert aus Methanol-Benzin in farblosen Säulen, die sich bei längerem Liegenlassen an der Luft gelb färben.

Den Hrn. H. Trischmann und K. Breitwieser sowie Frä. A. Roehse danken wir für eifrige Unterstützung bei Ausführung der Versuche.