

Wasserbad wurde die Lösung mit Wasser und verd. Alkali ausgeschüttelt. Nach Trocknen und Verdampfen des Benzols im Vak. wurde 2-mal fraktioniert. Die Hauptmenge ging bei 164—168°/9 mm über. Ausb. an analysenreinem Produkt 45% der Theorie.

$C_{10}H_{11}O_3Br$. Ber. Br 30.85. Gef. Br 30.80.

Die Friessche Verschiebung dieses Esters in Nitrobenzol mit Aluminiumchlorid sowie die Umlagerung mit gereinigtem $POCl_3$ als auch die direkte Synthese aus Veratrol und β -Brom-propionylchlorid, unter Bedingungen, unter denen bei dem α -Brom-Derivat Entmethylierung eintritt, führte zu keinem positiven Ergebnis.

An dieser Stelle möchte ich Hrn. Prof. A. v. Wacek für seine allzeit rege Unterstützung meinen besten Dank aussprechen.

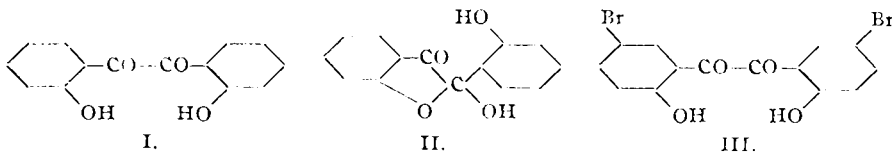
136. Richard Kuhn, Leonhard Birkofer und Ernst Friedrich Möller: Salicil.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung Heidelberg, Institut für Chemie.]
(Eingegangen am 9. Juli 1943.)

Die Feststellung, daß 4,4'-Diamino-benzil $H_2N.C_6H_4.CO.CO.C_6H_4.NH_2$ *in vitro* bakteriostatisch den klinisch verwendeten Sulfonamiden gleichkommt und wie diese ein Antagonist der *p*-Amino-benzoesäure $H_2N.C_6H_4.CO_2H$ ist¹⁾, hat zu der Aufgabe geführt, von weiteren physiologisch wirksamen Carbonsäuren die entsprechenden Diketone darzustellen und biologisch zu prüfen.

Das der Salicylsäure entsprechende 2,2'-Dioxy-benzil (Salicil) hat man schon wiederholt darzustellen versucht, doch sind alle Bemühungen um diese „langgesuchte“ Verbindung²⁾ bisher ergebnislos geblieben. Es gelang zwar das Salicylaldehyd-phenylhydrazon zum Osazon des 2,2'-Dioxybenzils zu dehydrieren, aber weder das hierbei erhaltene α -Osazon noch das durch Kochen mit Nitrobenzol daraus entstehende β -Osazon ließen sich zum gesuchten Salicil spalten. Auch eigenen Versuchen in dieser Richtung blieb ein Erfolg versagt.

Zum Ziel führte die Spaltung von 2,2'-Dimethoxy-benzil³⁾ mit Aluminiumchlorid. Für das so erhaltene gelbstichige 2,2'-Dioxy-benzil (Schmp. 154—155°) kommt neben der Diketonformel (I) auch die eines Cumaranderivates (II) in Frage⁴⁾.



¹⁾ R. Kuhn, E. F. Möller u. G. Wendt, B. **76**, 405 [1943].

²⁾ H. Biltz, A. **305**, 179 [1899].

³⁾ A. Schönberg u. O. Kraemer, B. **55**, 1184 [1922]; J. C. Irvine, Journ. chem. Soc. London **79**, 670 [1901].

⁴⁾ Vergl. die Desmotropie der Benzil-carbonsäure-(2), C. Graebe, B. **23**, 1344 [1890]; A. Hantzsch u. A. Schwiete, B. **49**, 213 [1916].

Die Umsetzung mit Phenylhydrazin in 70-proz. Essigsäure führte zu einem aus Nitrobenzol in gelben Blättchen krystallisierenden Osazon vom Schmp. 265—267°, das im Gemisch mit einem durch Umlagerung des α -Osazons nach H. Biltz²⁾ dargestellten Vergleichspräparat (Schmp. 265—267°) bei 264—265° schmolz. Das 2.2'-Dioxy-benzil liefert mit Essigsäureanhydrid eine weiße Diacetylverbindung (Schmp. 123°) und mit Brom das lebhaft gelbe 5.5'-Dibrom-2.2'-dioxy-benzil (Schmp. 213°). Der Beweis für die Stellung der Bromatome wird im Versuchsteil durch die Synthese 5-Brom-2-methoxy-benzaldehyd⁵⁾ $\xrightarrow{\text{KCN}}$ 5.5'-Dibrom-2.2'-dimethoxy-benzoin (Schmp. 105°) $\xrightarrow{\text{Fehling}}$ 5.5'-Dibrom-2.2'-dimethoxy-benzil (Schmp. 232°) $\xrightarrow{\text{AlCl}_3}$ 5.5'-Dibrom-2.2'-dioxy-benzil (Mischprobe) erbracht.

Die Ergebnisse der Prüfung⁶⁾ an Hefe (Rasse M), Milchsäurebakterien (*Sbm. plantarum*, 10 S I. G.) und an *Staphylococcus pyogenes aureus* (Stamm vR) waren:

Substanz	Hefe M			<i>Sbm. plant.</i>		<i>Staph. aureus</i>	
	pH	Std.	g/ccm	Std.	g/ccm	Std.	g/ccm
Salicylsäure	3.2	48	3.0×10^{-5}	48	1.0×10^{-2}	48	2.0×10^{-3}
	3.2	96	6.0×10^{-5}				bis
	6.6	48	$>1.6 \times 10^{-2}$	96	1.6×10^{-2}		6.0×10^{-5}
2.2'-Dioxy-benzil	3.2	48	1.6×10^{-5}	48	($\gg 1.6 \times 10^{-5}$)	48	6.0×10^{-5}
	3.2	96	$>1.6 \times 10^{-5}$				
	6.6	48	1.6×10^{-5}			96	$>2.5 \times 10^{-3}$
	6.6	96	($\gg 1.6 \times 10^{-5}$)				
4.4'-Dioxy-benzil	5.7	48	$>2.5 \times 10^{-4}$	48	6.0×10^{-6}	48	1.4×10^{-4}
	5.7	96	($\gg 2.5 \times 10^{-4}$)	96	1.2×10^{-4}		
2-Oxy-2-methoxy-benzil						48	3.0×10^{-5}
						96	5.0×10^{-5}
2.2'-Dimethoxy-benzil	3.2	48	$>1.6 \times 10^{-5}$				
	6.6	48	($\gg 1.6 \times 10^{-5}$)	48	($\gg 1.6 \times 10^{-5}$)		
5.5'-Dibrom-2.2'-dioxy-benzil	3.2	48	($\gg 1.6 \times 10^{-5}$)	48	1.0×10^{-5}	48	$1-2 \times 10^{-6}$
	6.6	48	($\gg 1.6 \times 10^{-5}$)	96	$>1.6 \times 10^{-5}$	96	$1-2 \times 10^{-6}$
Sulfathiazol	3.2	48	$>5.0 \times 10^{-3}$	48*)	$1-2 \times 10^{-6}$	48	3.0×10^{-5}
				48**	1.0×10^{-5}		

*) für 10^{-9} g *p*-Amino-benzoesäure/ccm. **) für 10^{-8} g *p*-Amino-benzoesäure/ccm.

Die Werte g/ccm geben an, bei welcher Konzentration das Wachstum vollständig unterdrückt wurde; > bedeutet unvollständige, (\gg) gar keine Hemmung bei der angegebenen Konzentration, die sich wegen zu geringer Löslichkeit nicht weiter erhöhen ließ. Gestaffelt wurden die Konzentrationen wie üblich⁶⁾ in Zweier-Potenzen.

Besonders bemerkenswert erscheint: a) Im Gegensatz zu Salicylsäure hemmt Salicil das Hefewachstum unabhängig vom pH. Bei pH = 6.6 unterdrückt es noch in einer Verdünnung von etwa 1:100 000 das Wachstum der geprüften Hefe völlig, wonach es zu den wirksamsten uns bekannten Stoffen gehört. Beim *Staphylococcus* ist Salicil weniger wirksam, vor allem findet mit zunehmender Versuchsdauer starke Enthemmung statt. b) Die Einführung von 2 Br in 5.5'-Stellung setzt die Wirksamkeit des Salicils bei

5) W. H. Perkin, A. **145**, 304 [1868].
6) Zur Methodik vergl. B. **76**, 405 [1943].

Hefe herab, steigert aber die bakteriostatische Aktivität bedeutend bei *Sbm. plant.* und *Staph. aureus*. Bei dem untersuchten vR-Stamm übertrifft das 5.5'-Dibrom-2.2'-dioxy-benzil mit 1:500000 bis 1:1000000 das für diesen Stamm wirksamste unter allen Sulfonamiden, nämlich das Sulfathiazol (1:30000), um etwa 1 Zehnerpotenz, wobei in wiederholten Versuchen mit zunehmender Versuchsdauer auch keine nennenswerte Enthemmung festzustellen war.

Unter denselben Bedingungen wurden für 2 Stämme von *Staphylococcus pyogenes aureus* mit verschiedenen Sulfonamiden die folgenden Werte erhalten (E. F. Möller):

	<i>Staph. aureus vR</i>		<i>Staph. aureus S</i>	
	48 Stdn.	96 Stdn.	48 Stdn.	96 Stdn.
Sulfanilamid	3.3×10^{-5}	1.3×10^{-4}	1.7×10^{-5}	1.3×10^{-4}
Sulfapyridin	1.6×10^{-5}	$\sim 1.0 \times 10^{-4}$	—	—
Sulfathiazol	$\sim 1.0 \times 10^{-5}$	1.6×10^{-5}	0.8×10^{-5}	1.6×10^{-5}
Tibatin	$\sim 2.0 \times 10^{-4}$	$> 2.5 \times 10^{-4}$	1.3×10^{-4}	2.5×10^{-4}
Marfanil	1.3×10^{-4}	2.5×10^{-4}	$\sim 1.0 \times 10^{-4}$	1.3×10^{-4}
Zephirol ⁷⁾	0.6×10^{-6}	2.2×10^{-6}	2.6×10^{-7}	5.5×10^{-6}

Auf die alkoholische Gärung (Preß- und Fruchtheife) wirkte Salicil 1:1000 nicht hemmend. Das Wachstum von Schimmelpilzen (*Penicillium glaucum*, *Aspergillus clavatus*) wurde durch Salicil 1:100 nur wenig verzögert, durch 5.5'-Dibrom-salicil 1:1000 aber vollständig unterdrückt (Nährlösung nach Czapek-Dox). 150—200 g schwere Ratten vertragen sowohl per os als auch subcutan 50 mg Salicil in Olivenöl je Tag in einer Versuchsreihe von 4 Tagen o. B. Salicil unterdrückt die Keimung von Kressesamen (*Lepidium sativum*) noch in einer Verdünnung von 1:10000 (F. Moewus).

Beschreibung der Versuche.

2.2'-Dioxy-benzil: 10 g 2.2'-Dimethoxy-benzil⁸⁾ (Schmp. 154⁰ bis 155⁰) wurden in 500 ccm Nitrobenzol gelöst und mit 100 g Aluminiumchlorid (feinst gepulvert) auf 55⁰ im Ölbad erhitzt (7 Stdn.). Es wurde auf Eis gegossen, zentrifugiert, die wäßr. Schicht abgehebert und die Nitrobenzollösung mit dem gleichen Volumen 2-n. Natronlauge kräftig gerührt (30 Min.). Die durch Zentrifugieren abgetrennte alkalische Lösung war tiefgelb und lieferte beim Ansäuern mit 2-n. Schwefelsäure 5.0 g 2.2'-Dioxy-benzil vom Schmp. 150—152⁰ (50—60% d. Th.). Durch Umkrystallisieren aus 70-proz. Essigsäure erhält man gelbstichige derbe Nadeln vom Schmp. 154—155⁰.

3.790 mg Sbst.: 9.655 mg CO₂, 1.46 mg H₂O. — 0.411 mg Sbst. in 4.43 mg Exalton: $\Delta = 0.85^{\circ}$.

C₁₄H₁₀O₄. Ber. C 69.40, H 4.16, Mol.-Gew. 242. Gef C 69.48, H 4.31, Mol.-Gew. 236.

Das 2.2'-Dioxy-benzil wird beim Schmelzen tiefgelb. Beim Erkalten hellt sich die Farbe wieder auf. Die alkohol. Lösung gibt mit Ferrichlorid eine bräunliche Färbung. In Wasser und in verd. Bicarbonat ist die Löslichkeit sehr gering. In verd. Soda und verd. Natronlauge ist die Substanz spielend mit tiefgelber Farbe löslich. In Alkohol ist die Farbe hellgelb, in Benzol tiefer.

⁷⁾ Zum Vergleich mit angegeben.

⁸⁾ A. Schönberg u. O. Kraemer, B. 55, 1184 [1922]; J. C. Irvine, Journ. chem. Soc. London 79, 670 [1901].

Analyse des Osasons (Schmp. 265—267°).

$C_{26}H_{22}O_3N_4$ (422.2). Ber. C 73.90, H 5.25, N 13.27. Gef. C 73.62, H 5.26, N 13.17.

Die durch Kochen mit Essigsäureanhydrid (30 Min.) erhaltene Diacetylverbindung krystallisiert aus Alkohol in weißen Blättchen vom Schmp. 123°.

$C_{18}H_{14}O_6$ (326.1). Ber. C 66.24, H 4.33. Gef. C 66.57, H 4.55.

5.5'-Dibrom-2.2'-dioxy-benzil: Mit Brom in Eisessig liefert das 2.2'-Dioxy-benzil eine lebhaft gelbgefärbte Dibromverbindung, die man aus Eisessig in biegsamen Nadeln vom Schmp. 212—213° erhält. Beim Schmelzen vertieft sich die Farbe nach Orange, beim Erkalten hellt sie sich wieder auf.

5.5'-Dibrom-2.2'-dimethoxy-benzoin: 10 g 5-Brom-2-methoxybenzaldehyd⁹⁾ wurden in 50 ccm 60-proz. Alkohol gelöst und mit 1 g Kaliumcyanid etwa 3 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Dann goß man unter kräftigem Rühren in ein mit Eis-Kochsalz gekühltes Becherglas und brachte die dabei ausfallende zähe Masse durch Verreiben mit absol. Alkohol zur Krystallisation (5 g). Zur Analyse wurde aus wenig absol. Alkohol unkrystallisiert. Blaß gelbstichige derbe Platten vom Schmp. 105°.

$C_{18}H_{14}O_4Br_2$ (429.9). Ber. C 44.66, H 3.28, Br 37.18. Gef. C 44.59, H 3.47, Br 36.94.

5.5'-Dibrom-2.2'-dimethoxy-benzil: 5 g Dibromdimethoxybenzoin wurden in 70 ccm 70-proz. Alkohol mit der eben erforderlichen Menge Fehlingscher Lösung in der Siedehitze (Rückfluß) dehydriert. Durch Auskochen des Cu_2O -Niederschlags und Ausschütteln der überstehenden Lösung mit Chloroform erhielten wir 4.5 g 5.5'-Dibrom-2.2'-dimethoxybenzil. Aus Eisessig oder Alkohol weiße derbe Nadeln. Schmp. 232°.

$C_{16}H_{12}O_4Br_2$ (427.9). Ber. C 44.87, H 2.83. Gef. C 45.04, H 3.03.

Dieselbe Verbindung wurde aus 2.2'-Dimethoxy-benzil und Brom (2 Mole) in Eisessig erhalten. Schmp. 232—233°, Misch-Schmp. 231—233°.

5.5'-Dibrom-2.2'-dioxy-benzil: 1 g Dibromdimethoxybenzil wurde in 50 ccm Nitrobenzol mit 10 g Aluminiumchlorid 7 Stdn. auf 55° (Ölbad) erhitzt. Die Aufarbeitung (vergl. 2.2'-Dioxy-benzil) lieferte 0.52 g 5.5'-Dibrom-2.2'-dioxybenzil (56% d. Th.), das aus Eisessig in biegsamen citronengelben Nadeln vom Schmp. 210° krystallisierte.

$C_{14}H_8O_4Br_2$ (399.9). Ber. C 42.01, H 2.03. Gef. C 42.12, H 2.33.

Dieselbe Verbindung erhielten wir aus 2.2'-Dioxy-benzil durch Bromierung in Eisessig. Schmp. 212—213°; Misch-Schmp. 212°. Leicht löslich in Alkohol und Benzol, löslich in Äther, nahezu unlöslich in Wasser; von verd. Natronlauge wird sie mit tiefgelber Farbe aufgenommen. Leicht löslich in Wasser ist der Borsäurekomplex des 5.5'-Dibrom-salicils, dessen Lösungen in der Kälte farblos sind und beim Erhitzen gelb werden. Der Borsäurekomplex ist gegen *Staph. pyogenes aureus* vR ebenso wirksam wie die freie Verbindung (völlige Unterdrückung des Wachstums durch $1-2 \times 10^{-5}$ g/ccm). Für die bakteriologische Prüfung wurden 5 mg Dibromdioxybenzil + 6 mg $Na_2B_4O_7 + 10H_2O$ in 3 ccm Wasser gelöst, mit 0.1 ccm $m/15-KH_2PO_4$ auf p_{Hf} 7.5 gebracht und mit dest. Wasser auf 5 ccm aufgefüllt. 50 mg 5.5'-Dibromsalicil erfordern etwa 5000 ccm reines Wasser, lassen sich aber schon

⁹⁾ W. H. Perkin, A. 145, 304 [1868].

in 1 ccm klar lösen, wenn man 31 mg H_3BO_3 + 20 mg NaOH zugibt und zuletzt mit 25 mg KH_2PO_4 abpuffert.

2-Oxy-2'-methoxy-benzil: Aus 2,2'-Dimethoxy-benzil (2 g) wurden durch Kochen in 20 ccm Eisessig mit 5 ccm 66-proz. Bromwasserstoffsäure (10—20 Min.) neben bromhaltigen Produkten und unverändertem Ausgangsmaterial durch häufiges Umkrystallisieren aus absol. Alkohol (tief kühlen!) als bromfreie Phenolfraktion weiße, briefumschlagähnliche Blättchen vom Schmp. 124—126° erhalten.

$C_{15}H_{12}O_4$ (256.1). Ber. C 70.29, H 4.72, OCH_3 12.10.
Gef. „ 70.01, „ 4.54, „ 12.14.

Die tiefgelbe Schmelze wird beim Erkalten wieder farblos.

Frau A. Birkofer, Fr. A. Roehse und Hrn. K. Breitwieser danken wir für Unterstützung bei Ausführung der Versuche.

137. Richard Kuhn und Helmut Beinert: Über das aus krebserregenden Azofarbstoffen entstehende Fermentgift.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung Heidelberg, Institut für Chemie.]
(Eingegangen am 15. Juli 1943.)

Dimethylaminoazobenzol $C_6H_4 \cdot N:N \cdot C_6H_4 \cdot N(CH_3)_2$, der bekannteste Vertreter unter den krebserregenden Azofarbstoffen¹⁾ (Buttergelb), wird *in vivo* an der Azogruppe reduktiv gespalten²⁾. Dieser Vorgang gleicht der Bildung von Sulfanilamid aus Prontosil rubrum im Tierkörper.

In 2 vor kurzem erschienenen Mitteilungen geben C. J. Kensler, S. O. Dexter und C. P. Rhoads³⁾ sowie C. J. Kensler, N. F. Young und C. P. Rhoads⁴⁾ an, daß bei 13 untersuchten aromatischen *p*-Diaminen a) die hemmende Wirkung im Hefecarboxylase-Cocarboxylase-system und im Diphosphopyridin-nucleotid-fermentssystem offensichtlich in Beziehung steht zur krebserregenden Wirkung der Azofarbstoffe, aus denen sie entstehen können, b) die Hemmung der Carboxylase parallel geht der Beständigkeit⁵⁾ der freien Radikale (Wursterschen Farbsalze), die durch Oxydation dieser *p*-Diamine gebildet werden. Danach sollten diese freien Radikale die wahren Fermentgifte und möglicherweise auch die eigentlichen krebserregenden Stoffe sein. „In each case the toxicity was associated with the formation of colored oxidation products from the reduced diamines.“ Uns schien es von höchstem Interesse festzustellen, ob auch andere freie Radikale, soweit sie wasserlöslich und luftbeständig sind, so auffallende biologische Wirkungen entfalten.

¹⁾ Zusammenfassung: H. v. Euler u. B. Skarzynski, Biochemie der Tumoren, Stuttgart 1942, S. 119 usw.

²⁾ E. S. Stevenson, K. Dobriner u. C. P. Rhoads, Cancer Res., in press (zit. nach Journ. biol. Chem. **143**, 465 [1942]). Die entsprechende hydrierende Spaltung von *o*-Amino-azotoluol im Tierkörper hatte schon Y. Hashimoto, Gann. **29**, 306 [1935], festgestellt.

³⁾ Cancer Res. **2**, 1 [1942].

⁴⁾ Journ. biol. Chem. **143**, 465 [1942].

⁵⁾ L. Michaelis, M. P. Schubert u. S. Granick, Journ. Amer. chem. Soc. **61**, 1981 [1939].