

ders für die Thiophenverbindungen IV und VIII, welche sowohl nach Art als auch Stärke in ihrem Vermögen örtlich zu betäuben durchaus dem Anästhesin (I) und Novokain (VI) entsprechen. Auch hemmt keiner der Ester das Wachstum von *Streptobacterium plantarum* in den verwendeten Konzentrationen bis 3×10^{-4} g/ccm stärker als die analogen Ester der *p*-Amino-benzoesäure. Der Grund hierfür könnte einerseits darin liegen, daß die Affinität zu den Haftstellen dieses Wuchsstoffes¹⁹⁾ sehr viel geringer wäre als bei den Sulfonamiden²⁾; andererseits könnte an Unterschiede in der Verseifungsgeschwindigkeit der Ester gedacht werden. Darüber hinaus besitzt die Vorstellung große Wahrscheinlichkeit, daß die *p*-Amino-benzoesäure im Stoffwechsel einer Reaktionsfolge unterliegt, an der die Sulfonamide bis zu einem gewissen Grade teilnehmen können, während die empfindliche 4-Amino-naphthoesäure-(1)²⁰⁾, die wenig beständige 5-Amino-thiophen-carbonsäure-(2)²¹⁾ und die unbeständige 5-Amino-furan-carbonsäure-(2)²²⁾ nebst deren Estern nicht teilnehmen. Die Annahme einer oxydativen Umwandlung erklärt am ehesten die Befunde, daß *p*-Hydroxylamino-benzolsulfonsäureamid *in vitro* bei Streptokokken viel stärker bakteriostatisch wirkt als Sulfanilamid²³⁾, während *p*-Hydroxylamino-benzoesäure ebenso stark enthemmt wie *p*-Amino-benzoesäure¹⁾.

5. Otto Dann und Ernst Friedrich Möller: Bakteriostatisch wirkende Nitro-Verbindungen des Thiophens und Furans.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie.]
(Eingegangen bei der Redaktion der Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft am 1. August 1944.)

Ein Vergleich der Wachstumshemmung verschiedener pathogener Bakterien *in vitro* durch *p*-Amino-benzolsulfonsäureamid, *p*-Oxyamino-benzolsulfonsäureamid und *p*-Nitro-benzolsulfonsäureamid hat unter anderem gezeigt, daß die Oxyamino-Verbindung stets als ebenso wirksam angesprochen werden kann, wie die Amino-Verbindung¹⁾. Außerdem grenzen sich hinsichtlich ihrer sehr verschiedenen Empfindlichkeit gegenüber diesen drei Stoffen deutlich mehrere Gruppen von Bakterien voneinander ab. So hemmt z. B. bei Meningokokken, Pneumokokken und Gonokokken die Nitro-Verbindung am schlechtesten, bei den Anaerobiern der Clostridium-Gruppe umgekehrt weitaus am besten. Die überragende Wirkung des *p*-Oxyamino-benzolsulfonsäureamids gegen Streptokokken *in vitro* war schon früher von R. L. Mayer gefunden worden²⁾.

¹⁹⁾ R. Kuhn u. K. Schwarz, B. 74, 1617 [1941].

²⁰⁾ P. Friedländer u. J. Weisberg, B. 28, 1842 [1895].

²¹⁾ W. Steinkopf u. P. J. Müller, A. 448, 205 [1926].

²²⁾ R. Marquis, Ann. Chim. [8] 4, 267 [1905].

²³⁾ R. L. Mayer u. C. Oechslin, Compt. rend. Acad. Sciences 205, 181 [1937]; Compt. rend. Acad. Méd. 117, 727 [1937].

¹⁾ H. Burton, J. W. McLeod, T. S. McLeod, A. Mayr-Harting, Brit. Journ. exp. Pathol. 21, 288 [1940].

²⁾ R. L. Mayer u. Ch. Oechslin, Compt. rend. Acad. Sciences 205, 181 [1937]; Bull. Acad. Méd. 117, 727 [1937].

In vivo hinwiederum hatte sich die Nitro-Verbindung gegenüber der Amino-, Oxyamino- und einer Azo-Verbindung als aktiver erwiesen. Diese Untersuchungen führten zu dem auch durch die oben angeführten Versuche¹⁾ gestützten Schluß, daß in allen Fällen die Oxyamino-Stufe als eigentlich wirksame gebildet werde.

Bei der Pneumokokken-Infektion der Maus heilen Ester der *p*-Nitro-benzoesäure ebenfalls ganz besonders ausgeprägt^{3) 4) 5)}. Trotz ihrer überraschend guten Verträglichkeit führten sie sich in die Therapie nicht ein, weil gegen Pneumokokken Sulfapyridin nicht übertroffen und gegen Streptokokken Sulfanilamid nicht erreicht wird³⁾.

Auch die freie *p*-Nitro-benzoesäure besitzt an der Maus einen gewissen, schwach heilenden Einfluß bei der Infektion mit Trypanosomen⁶⁾, Streptokokken^{3) 7)} und Pneumokokken³⁾. In vitro hemmt sie Pneumokokken Typ I recht schwach^{3) 8)}, besser den Typ II⁹⁾; wenig beeinflusst werden Streptokokken⁸⁾. In Kulturen von *Streptococcus viridans* hat J. K. Miller¹⁰⁾ die überraschende Feststellung gemacht, daß die baktericide Wirksamkeit der *p*-Nitro-benzoesäure durch sehr geringe Mengen *p*-Amino-benzoesäure aufgehoben wird, welche auch in der Kultur selbst infolge Reduktion entsteht, und er vergleicht diesen Antagonismus mit jenem bei den Sulfonamiden¹¹⁾.

Für diese ließ sich zeigen, daß strukturell-chemisch sehr ähnliche Verbindungen trotz gemeinsamer pharmakologischer Eigenschaften die Rolle der *p*-Amino-benzoesäureester als Antagonisten des Sulfanilamids nicht übernehmen können¹²⁾. Bei den Nitrocarbonsäureestern des Naphthalins, Thiophens und Furans sollte demnach die Enthemmung durch Reduktion unwahrscheinlich sein. Sehr bemerkenswert erschien deshalb ein Befund von V. Fischl¹³⁾, wonach *p*-Nitro-benzoesäure auch auf *Staphylococcus pyogenes aureus* einwirkt, da gerade bei derartigen Infektionen die Therapie mit Sulfonamiden allzuhäufig versagt. Zwar verhindert Sulfathiazol (XVII, Tafel I), mit dem klinisch noch die besten Ergebnisse erzielt werden, das Wachstum von Staphylokokken auf synthetischem Nährmedium recht gut, in Bouillon aber sehr viel schlechter¹⁴⁾. Ausgezeichnet bakteriostatisch wirken

³⁾ R. L. Mayer u. Ch. Oechslin, *Compt. rend. Soc. Biol.* **130**, 211 [1939].

⁴⁾ Siehe G. Domagk, *Chemotherapie bakterieller Infektionen* (Leipzig 1940).

⁵⁾ W. Meiser u. F. Schönhöfer, *Med. u. Chem.* **4**, 130 [1942].

⁶⁾ S. M. Rosenthal u. H. Baur, *C.* **1942** I, 3018 (*Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **47**, 335 [1941]).

⁷⁾ S. M. Rosenthal u. H. Baur, *C.* **1940** I, 1866 (*Publ. Health Rep.* **54**, 1317 [1939]).

⁸⁾ H. J. White, A. C. Bratton, J. T. Litchfield u. E. K. Marshall, *Journ. Pharmacol. exp. Therapeut.* **72**, 112 [1941].

⁹⁾ J. T. King u. A. F. Henschel, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **47**, 400 [1941].

¹⁰⁾ *Journ. Pharmacol. exp. Therapeut.* **71**, 14 [1941].

¹¹⁾ D. D. Woods, *Brit. Journ. Exp. Pathol.* **21**, 74 [1941].

¹²⁾ O. Dann u. E. F. Möller, s. vorangehende Mitteilung.

¹³⁾ *Ztschr. Immunitätsforsch. exp. Therapie* **82**, 146 [1934].

¹⁴⁾ J. Zeissler, *Klin. Wschr.* **22**, 441 [1943].

dagegen 5.5'-Dibrom-salicyl (XVIII), über das kürzlich von R. Kuhn, L. Birkofer und E. F. Möller berichtet wurde¹⁵⁾, und 8-Oxy-chinolin (XIX)¹⁶⁾.

Außerdem wurden in früher beschriebener Weise¹⁷⁾ bei verschiedenen Staphylokokken-Stämmen und bei *Streptobacterium plantarum* die Wachstumshemmungen durch *p*-Nitro-benzoesäure, ihr Amid und ihren Äthylester mit denjenigen verglichen, welche durch die entsprechenden Verbindungen des Naphthalins, Thiophens und Furans sich hervorrufen ließen. Darauf folgte im Hinblick auf das von E. Fourneau, J. Tréfouré, u. Tréfouré, F. Nitti u. D. Bove⁴⁾ *in vivo* als hochaktiv erkannte *p*.*p'*-Dinitro-diphenylsulfid die Darstellung und Prüfung von 5.5'-Dinitro-dithienyl-(2.2')-sulfid und 5.5'-Dinitro-difuryl-(2.2')-sulfid. (Tafel 1, S. 26/27).

Die Werte der Tafel 1 geben an, bei welcher Konzentration (g/ccm) der betreffenden Verbindung in der synthetischen Nährlösung vollständige Wachstumshemmung eintrat. Die eingeklammerten Werte wurden in Bouillon als Medium erhalten. Je nach dem Wachstum des Stammes erfolgten die Ablesungen mit 1-2-tägigem Zwischenraum bei einer Gesamtversuchsdauer von höchstens 5 Tagen. In der synthetischen Nährlösung von *Streptobacterium plantarum* befand sich *p*-Amino-benzoesäure in einer Konzentration von 2×10^{-9} g/ccm und bei den [] eingeklammerten Werten im 16-fachen Betrag gleich 3.2×10^{-8} g/ccm.

Es bedeuten > unvollständige, \gg keine Hemmung und < noch kein Wachstum bei der geprüften, angegebenen Konzentration.

Bereits die einfachen Homologen der *p*-Nitro-benzoesäure II, III, IV lassen deutliche Unterschiede erkennen. Der Verschuß der Carboxylgruppe durch Amidierung (VII, VIII) oder Veresterung (X, XI) steigert die Wirksamkeit so, daß Sulfathiazol (XVII) schon übertroffen wird.

Indessen vermißt man bei den Naphthalin-Derivaten II und VI jede besondere Aktivität, obwohl die 4-Amino-naphthoesäure-(1)-ester Sulfanilamid nicht enthemmen¹²⁾. Auch das *p*.*p'*-Dinitro-diphenylsulfid (XIV), bei dem durch gebildete Reduktionsprodukte ebenfalls keine Enthemmung zu erwarten ist, versagt. Die Wirksamkeit der heterocyclischen Nitro-Verbindungen beruht bei den mitgeteilten Versuchen also in erster Linie auf einer anderen Ursache. Wie noch gezeigt werden wird, spielt die Reduzierbarkeit die Hauptrolle.

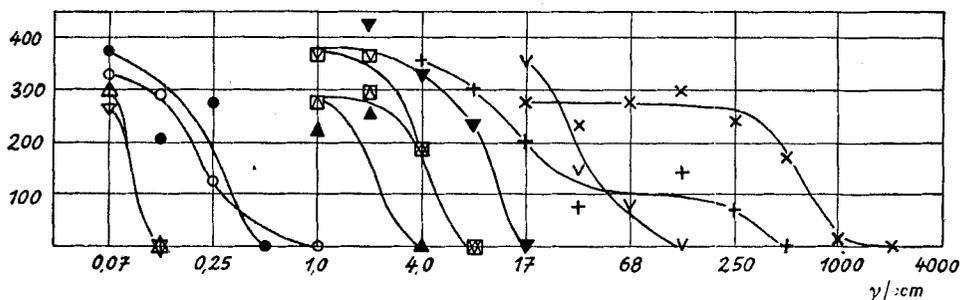
Ihrem wachstumshemmenden Einfluß auf Staphylokokken *in vitro* nach gehören 5.5'-Dinitro-dithienyl-(2.2')-sulfid (XV) und 5.5'-Dinitro-difuryl-(2.2')-sulfid (XVI) zu den wirksamsten bisher bekannten synthetischen Verbindungen. Noch in Verdünnungen von 1 : 5000000 können sie das Wachstum von vereinzelt Staphylokokken-Stämmen vollständig unterbinden.

¹⁵⁾ B. 76, 900 [1943]. ¹⁶⁾ M. Aitoff, Compt. rend. Soc. Biol. 124, 949 [1937].

¹⁷⁾ Vergl. R. Kuhn, E. F. Möller u. G. Wendt, B. 76, 405 [1943]; s. dazu R. Kuhn, F. Weygand u. E. F. Möller, B. 76, 1044 [1943], Fußn. 11.

Tafel I.
Vergleich der wachstumshemmenden Konzentrationen
in g/ccm von Nitro-Verbindungen.

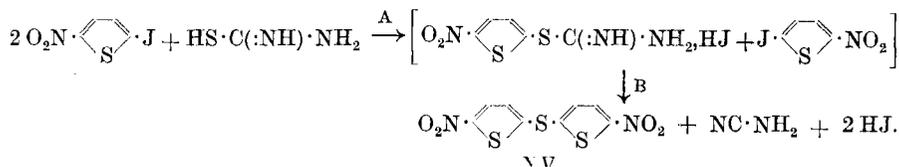
$\cdot C_6H_4 \cdot =$  , $\cdot C_{10}H_8 \cdot =$  , $\cdot C_6H_4O \cdot =$  , $\cdot C_6H_4S \cdot =$ 	Staphylococcus						Streptobacterium plantarum Stamm 10 S.I.G. 1. 2.		
	Stamm S*)			Stamm Au II**)				albus	
	Stamm aureus			Stamm Au II**)				Stamm A***)	
	Ablesung I. 2.			1. 2.				1. 2.	
I. $O_2N \cdot C_6H_4 \cdot CO_2H$	1×10^{-4}	1×10^{-3}							
II. $O_2N \cdot C_{10}H_8 \cdot CO_2H$	$> 3 \times 10^{-4}$	$\geq 3 \times 10^{-4}$							
III. $O_2N \cdot C_6H_4S \cdot CO_2H$	3×10^{-5}	1×10^{-4}							
IV. $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot CO_2H$	3×10^{-4}	$> 3 \times 10^{-4}$							
V. $O_2N \cdot C_6H_4 \cdot CO \cdot NH_2$	2×10^{-4}	4×10^{-4}	2×10^{-3}	4×10^{-3}	5×10^{-4}	5×10^{-4}			
VI. $O_2N \cdot C_{10}H_8 \cdot CO \cdot NH_2$	3×10^{-4}	$> 3 \times 10^{-4}$							
VII. $O_2N \cdot C_6H_4S \cdot CO \cdot NH_2$	8×10^{-6} (4×10^{-6})	2×10^{-5} 8×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-5}	8×10^{-6} (8×10^{-6})	8×10^{-6} (8×10^{-6})			
VIII. $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot CO \cdot NH_2$	4×10^{-6} (2×10^{-6})	4×10^{-6} 4×10^{-6}	2×10^{-5}	4×10^{-5}	8×10^{-6} (2×10^{-6})	8×10^{-6} (2×10^{-6})			
IX. $O_2N \cdot C_6H_4 \cdot CO_2 \cdot C_2H_5$	$\geq 2 \times 10^{-5}$		$> 2 \times 10^{-5}$ ($\geq 2 \times 10^{-5}$)	$\geq 2 \times 10^{-5}$					
X. $O_2N \cdot C_6H_4S \cdot CO_2 \cdot C_2H_5$	8×10^{-6}	8×10^{-6}	8×10^{-6} (2×10^{-5})	8×10^{-6} (2×10^{-5})	8×10^{-6} (2×10^{-5})	8×10^{-6} (2×10^{-5})			



Abbild. 1. Versuch W XII 751. Wachstumshemmung von Staph. aur. Stamm S, in synthet. Nährlösung nach 5 Tagen. Ordinate: Trübungswerte (Extinktion am Lange-Photometer $\times 1000$). Abszisse: Konzentration der Hemmstoffe in $\gamma/\text{cm} = 10^{-6}$ g/ccm.

- | | | | | | |
|---|---|-------|---|------------------------------------|--------|
| ▽ | 5-Nitro-thiophen-carbonsäure-(2) | III. | △ | 5.5'-Dinitro-difuryl-(2.2')-sulfid | XVI. |
| ▼ | 5-Nitro-thiophen-carbonsäure-(2)-amid | VII. | ● | 8-Oxy-chinolin | XIX. |
| ☒ | 5-Nitro-thiophen-carbonsäure-(2)-äthylester | X. | ○ | 5.5'-Dibrom-salicyl | XVIII. |
| ▽ | 5.5'-Dinitro-dithienyl-(2.2')-sulfid | XV. | + | Sulfathiazol | XVII. |
| ▲ | 5-Nitro-furan-carbonsäure-(2)-amid | VIII. | × | <i>p</i> -Nitro-benzoesäure | I. |
| ☒ | 5-Nitro-furan-carbonsäure-(2)-äthylester | XI. | | | |

Die Darstellung des 5.5'-Dinitro-dithienyl-(2.2')-sulfids (XV) aus 5-Nitro-2-jod-thiophen¹⁸⁾ und Thioharnstoff¹⁹⁾ erfolgt in Aceton, das im Gegensatz zu Alkohol keine Nebenreaktionen verursacht²⁰⁾.



Da keine nennenswerten Mengen Mercaptan gefunden werden¹⁹⁾, muß die Reaktion B hierbei viel schneller als A verlaufen.

Das Brückenschwefelatom von XV reagiert mit Oxydationsmitteln träge. Aus heißem Eisessig und Perhydrol krystallisiert XV unverändert aus. Mit CrO_3 in 10-proz. Überschuß wird es in heißem Eisessig nur teilweise zum Sulfon oxydiert, während *p,p'*-Dinitro-diphenylsulfid (XIV) glatt dabei reagiert²¹⁾.

Gut läßt sich mit Kaliumpermanganat in kochendheißem Eisessig das Sulfon XIII erhalten, welches in der Wirksamkeit bei Staphylokokken hinter dem Sulfid XV zurückbleibt.

Daß der erhebliche Schwefelgehalt von 30% die überragende Eigenschaft dieser Verbindung nicht verursacht, beweist die keineswegs geringere Aktivität

¹⁸⁾ Darstellung s. O. Dann, B. 76, 419 [1943].

¹⁹⁾ J. Taylor u. A. E. Dixon, Journ. chem. Soc. London 125, 243 [1924]; E. Rosenhauer, H. Hoffmann u. W. Heuser, B. 62, 2730 [1929]; G. W. Watt, Journ. org. Chem. 2, 148 [1937]; 4, 436 [1939]; A. R. Surrey u. H. G. Lindwall, Journ. Amer. chem. Soc. 62, 1697 [1940].

²⁰⁾ J. M. Sprague u. T. B. Johnson, Journ. Amer. chem. Soc. 59, 2439 [1937].

²¹⁾ E. Fromm u. J. Wittmann, B. 41, 2269 [1908].

des 5,5'-Dinitro-difuryl-(2,2')-sulfids (XVI). Seine Darstellung aus 5-Nitro-2-brom-furan²²⁾ und Thioharnstoff verläuft sehr glatt.

Trotz der großen Unterschiede im Einfluß auf das Wachstum von Staphylokokken-Kulturen weisen entsprechende Verbindungen des Naphthalins, Benzols, Thiophens und Furans zwar graduelle, aber keine prinzipiellen Unterschiede im chemischen Verhalten auf²³⁾. Im Gegensatz zu anderen Derivaten¹⁸⁾ fallen die Schmelzpunkte in der Kernhomologen-Reihe der Amide V, VII, VIII und der Sulfide XIV, XV, XVI. Farbreaktionen und Geschmacksproben zeigen sehr sinnfällig weitere Abstufungen (Tafel 2).

Tafel 2*)

Farb- und Geschmacksvergleiche.

	·C ₆ H ₄ · =  , ·C ₁₀ H ₆ · =  ,	·C ₄ H ₂ S· =  , ·C ₄ H ₂ O· = 	Kry- stall- farbe	Lösungsfarbe in		Geschmack
				konz. H ₂ SO ₄	konz. KOH	
I.	O ₂ N·C ₆ H ₄ ·CO ₂ H.....		eben gelb- stichig	—	nach 24 Stdn. — Beim Kochen orangerot	flüchtig süß, dann stark bitter
II.	O ₂ N·C ₁₀ H ₆ ·CO ₂ H.....		gelb	orange- gelb	nach 24 Stdn. — Beim Kochen grüngelb	bitter
III.	O ₂ N·C ₄ H ₂ S·CO ₂ H.....		eben gelb- stichig	—	nach 5 Min. — Nach 24 Stdn. tiefpurpur.	flüchtig sehr süß, dann stark bitter
IV.	O ₂ N·C ₄ H ₂ O·CO ₂ H.....		eben gelb- stichig	—	nach 5 Min. tief Rubinrot	flüchtig sauer, dann stark bitter
XIV.	O ₂ N·C ₆ H ₄ ·S·C ₆ H ₄ ·NO ₂		tiefgelb	sehr intensiv purpurrot	nach 24 Stdn.+) —	geschmack- los
XV.	O ₂ N·C ₄ H ₂ S·S·C ₄ H ₂ S·NO ₂		fahlgelb	wenig intensiv orangerot	nach 5 Min. tiefpurpur +)	geschmack- los
XVI.	O ₂ N·C ₄ H ₂ O·S·C ₄ H ₂ O·NO ₂		gelb- stichig	wenig intensiv rotorange	nach 5 Min. tief Rubinrot +)	geschmack- los
IX.	O ₂ N·C ₆ H ₄ ·CO ₂ ·C ₂ H ₅		farblos	—		süß
X.	O ₂ N·C ₄ H ₂ S·CO ₂ ·C ₂ H ₅		farblos	—		sehr süß
XI.	O ₂ N·C ₄ H ₂ O·CO ₂ ·C ₂ H ₅		farblos	—		geschmack- los

*) In dieser und den Tafeln 3 und 4 bedeutet — daß keine Farbreaktion beobachtet wurde.
) In alkohol. Lösung.

²²⁾ J. Rinkes, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 50, 981 [1931]. ²³⁾ S. dazu V. Meyer u. P. Jacobson, Lehrb. der Organ. Chemie, Bd. 2, Tl. 3 (Berlin u. Leipzig 1920).

Bei den Sulfiden XIV, XV, XVI fällt die Gegenläufigkeit der Farbvertiefungen mit konz. Kalilauge und konz. Schwefelsäure auf. Den Angriffspunkt für das Alkali stellt die Nitro-Gruppe dar. Bei dieser Reaktion ist eine Anlagerung von KOH anzunehmen, welche fürs 2-Nitro-thiophen z. B. nach W. Steinkopf zum Kaliumsalz des *aci*-2-Nitro-3-oxy-2,3-dihydro-thiophens führt²⁴⁾. Diese Addition erfolgt von Nitroverbindungen des Benzols über solche des Thiophens zu jenen des Furans hin zunehmend leichter, Hand in Hand mit dem anwachsenden „Dien“-Charakter, ähnlich wie nach den Befunden von J. Meisenheimer²⁴⁾ auch vom Nitrobenzol über die Nitronaphthaline zum 8-Nitro-anthracen hin.

Für die Halochromie von Thioäthern mit Schwefelsäure haben P. Pfeiffer und H. Jäger²⁵⁾ eine Deutung gegeben; sicher geht sie von den freien Elektronen des Brückenschwefel-Atoms aus, welche benachbart zum Thiophen- und Furanring viel mehr als beim Benzolring²⁶⁾ an der Bindung der Kerne teilnehmen.

Von besonderer Wichtigkeit für das Verständnis der bakteriostatischen Wirkungsweise ist die Prüfung der Reduzierbarkeit der Nitro-Verbindungen, von denen die Carbonsäuren I, II, III, IV herangezogen wurden (Tafel 3).

Tafel 3.

Verhalten gegen Reduktionsmittel.

Die Proben der Säuren waren in 2*n* NaOH gelöst. 5 Min. nach Zugabe des Überschusses der Reagenslösung wurde bei Raumtemperatur verglichen.

	I $O_2N \cdot C_6H_4 \cdot CO_2H$	II $O_2N \cdot C_{10}H_8 \cdot CO_2H$	III $O_2N \cdot C_6H_2S \cdot CO_2H$	IV $O_2N \cdot C_6H_2O \cdot CO_2H$
Natriumarsenit	—	—	carminrot*)	—
Natriumsulfid	gelblich	gelborange	tiefblauviolett	—
Natriumstannit	hellgelb u. Fällung	rotorange u. Fällung	tiefblauviolett	—

*) Unvollständige Reduktion.

Die tiefen Färbungen bei III rühren von der leichten Reduktion zur Azo-Verbindung her, während I unter den gleichen Bedingungen zunächst die kaum gefärbte Azoxy-Verbindung liefert.

Eine bessere Vorstellung über die Unterschiede der Reduzierbarkeit gibt das Verhalten gegenüber Redox-Indicatoren²⁷⁾.

²⁴⁾ W. Steinkopf, Die Chemie des Thiophens (Dresden 1941), S. 57; J. Meisenheimer, A. **323**, 205 [1902]; s. auch Fußn. 23), Bd. 1, Tl. 1, S. 414 usw.

²⁵⁾ B. **75**, 1885 [1942].

²⁶⁾ R. Nietzki u. H. Bothof, B. **27**, 3261 [1894]. Anm.: Sehr vorteilhaft läßt sich nach diesen Autoren dargestelltes *p.p'*-Dinitro-diphenylsulfid aus Essigsäureanhydrid und dann aus Dioxan umkrystallisieren statt nur aus Eisessig.

²⁷⁾ L. Michaelis, Oxydations-Reduktions-Potentiale (Berlin 1933).

Zu diesem Zweck wurden im Reagensglas noch gut durchsichtige Lösungen der Merckschen Redox-Farbstoffe (rund 0.001 mol.) in 0.1 mol. Phosphatpuffer vom p_H 7.5 frisch bereitet und filtriert. In zwei nebeneinander stehenden Reagensgläsern, durch welche reiner Stickstoff gleichmäßig perlte, wurden je 2.5 ccm der Indicatorlösung mit festem $Na_2S_2O_4$ zu etwa $\frac{4}{5}$ reduziert. In das eine Probierrglas kam nun 1 ccm der sauerstofffreien Puffer-Lösung (Leerwert) und sofort danach in das andere 1 ccm der 0.02 mol. sauerstofffreien Lösung der Nitrocarbonsäure im Phosphatpuffer. Nach 10 Sek. und 1 Min. (eingeklammerte Befunde) verglich man mit der entsprechend verd. Indicatorlösung, ob vollständig oxydiert worden war (Tafel 4).

Tafel 4.
Reduktion mit Redox-Farbstoffen bei p_H 7.5.

	e_0' in mV bei p_H 7.0	I $O_2N \cdot C_6H_4 \cdot$ CO_2H	II $O_2N \cdot C_{10}H_8 \cdot$ CO_2H	III $O_2N \cdot C_4H_2S \cdot$ CO_2H	IV $O_2N \cdot C_4H_2O \cdot$ CO_2H
Neutralrot	-320	+	+	+	+
Safranin T	-290	+	+	+	+
Indigodisulfonat .	-110	—	—	+	+
Indigotrisulfonat .	- 70	—	—	— (+)	+
Indigotetrasulfonat	- 30	—	—	—	— (+)
Methylenblau ...	+ 10	—	—	—	—
Thionin	+ 60	—	—	—	—

Eindeutig gibt sich zu erkennen, daß diejenigen Nitrocarbonsäuren am leichtesten reduziert werden, welche in vitro Staphylokokken am stärksten hemmen. Durchaus ähnliche Verhältnisse werden vermutlich auch bei den Nitrosulfiden XIV, XV, XVI anzutreffen sein.

In Kulturlösungen von Staphylokokken ist ein Potential von — 140 mV anzutreffen²⁸). Dieses Milieu gewährleistet den Redox-Farbstoff-Versuchen nach eine rasche Reduktion der Nitrothiophen- und Nitrofuran-Verbindungen.

Beim Betupfen der intakten menschlichen Haut mit einer konz. alkohol. Lösung von 5.5'-Dinitro-difuryl-(2.2')-sulfid färbt sich diese bereits nach 1 Stde. ziegelrot; die Farbe verblaßt nach 2 Tagen. Die Thiophen-Verbindung (XV) und die des Benzols (XIV) geben keine Veränderung.

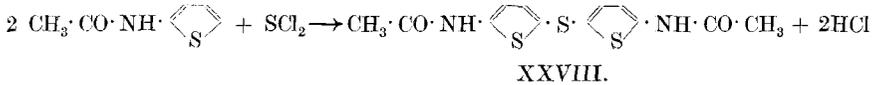
Zur Prüfung der Frage, ob auch die den bakteriostatischen Nitro-Verbindungen entsprechenden Amino-Verbindungen hemmende Eigenschaften besitzen, standen die Aminocarbonsäureäthylester (XXX, XXXI) zum Vergleich schon bereit¹⁸). Beim Versuch, 5.5'-Diamino-dithienyl-(2.2')-sulfid darzustellen, verläuft die Reduktion des 5.5'-Dinitro-dithienyl-(2.2')-sulfids (XV) mit Al-Amalgam recht unerfreulich, wie nach der Empfindlichkeit von Amino-thiophen²⁹) zu erwarten ist. Bei derselben Behandlung wird überraschender-

²⁸) L. F. Hewitt, Biochem. Journ. **24**, 676 [1930].

²⁹) W. Steinkopff u. G. Lützkendorf, A. **403**, 17 [1914].

weise das 5.5'-Dinitro-dithienyl-(2.2')-sulfon (XIII) sogar reaktiv gespalten, und nach dem Acetylieren läßt sich 2-Acet-thiophenid als einziges Produkt fassen.

Umgekehrt setzt sich 2-Acet-thiophenid mit SCl_2 glatt um. Da allgemein beim Thiophen die α -Stellungen bevorzugt reagieren³⁰⁾, ist dem entstandenen farblosen Hauptprodukt wohl die Struktur eines 5.5'-Diacetylamino-dithienyl-(2.2')-sulfids (XXVIII) zuzuschreiben.



Tafel 5.
Vergleich der wachstumshemmenden Konzentrationen
in g/cem von Amino-Verbindungen.

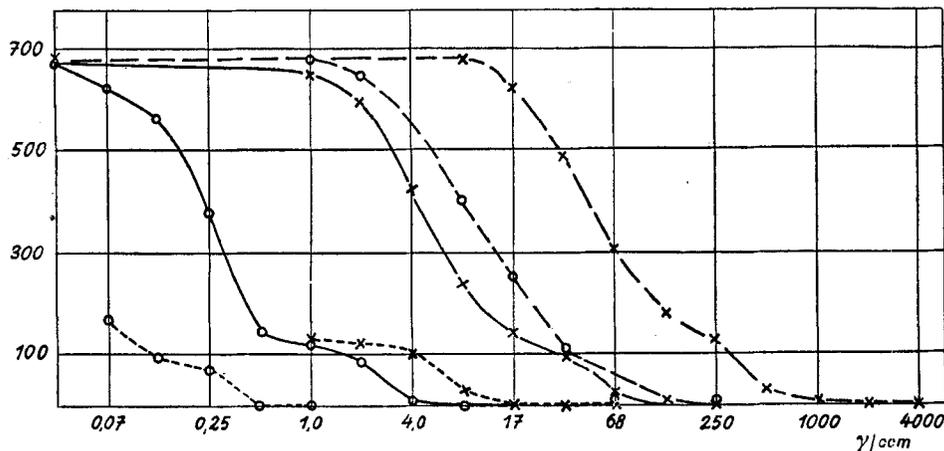
Erklärung der Formeln und Zeichen s. Tafel 1	Staphylococcus aureus Stamm S.	Streptobacterium plantarum Stamm 10 S I.G.
XX. $\text{H}_2\text{N} \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH}_2$	$\gg 4 \times 10^{-3}$	$> 8 \times 10^{-6}$ 2×10^{-4} [3×10^{-4} 1×10^{-3}]
XXI. $\text{H}_2\text{N} \cdot \text{C}_{10}\text{H}_6 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH}_2$	$\gg 3 \times 10^{-4}$	$\gg 3 \times 10^{-4}$
XXII. $\text{H}_2\text{N} \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{SO}_2 \cdot \text{NH}_2$	$\gg 3 \times 10^{-5}$ $> 4 \times 10^{-3}$	1×10^{-6} 4×10^{-6} [2×10^{-5} 4×10^{-5}]
XXIII. $\text{CH}_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{SO}_2 \cdot \text{NH}_2$...	$\gg 4 \times 10^{-3}$	1×10^{-4} 2×10^{-4} [1×10^{-4} 2×10^{-4}]
XXIV. $\text{H}_2\text{N} \cdot \text{C}_{10}\text{H}_6 \cdot \text{SO}_2 \cdot \text{NH}_2$	$> 7 \times 10^{-5}$ 2×10^{-4}	$\gg 2 \times 10^{-4}$
XXV. $(\text{H}_2\text{N} \cdot \text{C}_6\text{H}_4)_2\text{SO}_2$	3×10^{-4} 3×10^{-4}	1×10^{-6}
XXVI. $(\text{CH}_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{C}_6\text{H}_4)_2\text{SO}_2$	$\gg 2 \times 10^{-5}$	$> 2 \times 10^{-5}$ $\gg 2 \times 10^{-5}$
XXVII. $(\text{H}_2\text{N} \cdot \text{C}_6\text{H}_4)_2\text{S}$	$> 2 \times 10^{-5}$ $\gg 2 \times 10^{-5}$	$\gg 2 \times 10^{-5}$
XXVIII. $(\text{CH}_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{C}_6\text{H}_4)_2\text{S}$	$> 4 \times 10^{-6}$ 2×10^{-5}	1×10^{-4} 1×10^{-4} [1×10^{-4} 1×10^{-4}]
XXIX. $\text{H}_2\text{N} \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{CO}_2 \cdot \text{C}_2\text{H}_5$	$\gg 3 \times 10^{-4}$	$\gg 3 \times 10^{-4}$
XXX. $\text{H}_2\text{N} \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{S} \cdot \text{CO}_2 \cdot \text{C}_2\text{H}_5$	$\gg 3 \times 10^{-4}$	$\gg 3 \times 10^{-4}$
XXXI. $\text{H}_2\text{N} \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{O} \cdot \text{CO}_2 \cdot \text{C}_2\text{H}_5$	$\gg 3 \times 10^{-4}$	$\gg 3 \times 10^{-4}$

³⁰⁾ S. Fußn. 24, S. 25.

Aus der entsprechenden Umsetzung von 2-Acet-thiophenid mit S_2Cl_2 läßt sich in grünglitzernden Kryställchen eine Verbindung erhalten, die das 5.5'-Diacetyl-amino-dithienyl-(2.2')-disulfid darstellen dürfte.

Keine der geprüften Amino-Verbindungen (s. Tafel 5) verhindert das Wachstum von Staphylokokken in so spezifischer Weise wie die entsprechenden Nitro-Verbindungen (s. Tafel 1), deren Wirksamkeit demnach an eine Reduktion geknüpft ist. Für die Sulfonamide wurde die Oxydation zu den eigentlich wirksamen Oxyamino-Verbindungen²⁾ besonders im Hinblick auf die Hemmung der Katalase schon mehrfach angenommen³¹⁾. Aber auch als katalasefrei bezeichnete Bakterien werden deutlich beeinflusst¹⁾.

Für eine Acetylamino-Verbindung übt XXVIII einen ganz bemerkenswerten Einfluß in vitro aus. In den Kulturen von *Streptobacterium plantarum* ist jedoch hierbei wie auch beim acetylierten Sulfanilamid (XXIII) keine dem Sulfanilamid (XXII) vergleichbare Entthemmung durch *p*-Amino-benzoesäure festzustellen. Die Wachstumshemmung durch *p*-Amino-benzamid (XX)³²⁾ dagegen wird von *p*-Amino-benzoesäure in derselben Weise aufgehoben wie beim Sulfanilamid³³⁾ (Abbild. 2).



Abbild. 2. Versuch W XII 794. Wachstumshemmung von *Streptobact. plant.* durch *p*-Amino-benzamid (XX) x-x im Vergleich zu Sulfanilamid (XXII) o-o bei steigenden Konzentrationen von *p*-Amino-benzoesäure ---- 1.3×10^{-10} , — 2×10^{-9} , — 3.2×10^{-8} g/cm im synthetischen Nährmedium¹⁷⁾*) nach 3 Tagen.

Ordinate: Trübungswerte (Extinktion am Lange-Photometer $\times 1000$). Abszisse: Konzentration der Hemmstoffe in g/cm.

*) Die Tryptophan-Konzentration betrug 5×10^{-4} statt 0.5×10^{-4} g/cm.

³¹⁾ S. Fußn. 4, S. 62 usw. ³²⁾ S. a. J. Hirsch, *Science* **96**, 139 [1942]; *Compt. rend Soc. Turque Sci. Physique natur.* **10**, Nr. 10 [1941, 1942]. Herstellung des verwandten *p*-Amino-benzamids: Die Hydrierung von 8.15 g *p*-Nitro-benzamid (0.05 Mol) in 600 ccm warmem Alkohol ging mit 0.2 g PtO_2 in 45 Minuten nach Aufnahme von 3920 ccm H_2 zu Ende. Der Rückstand, welcher nach Verjagen des Alkohols hinterblieb, wurde aus Alkohol, dann aus Wasser jeweils mit Aktivkohlezusatz kristallisiert. Die kaum gelbstichigen Blättchen schmolzen bei 176-179°.

³³⁾ E. F. Möller u. K. Schwarz, *B.* **74**, 1612 [1941].

Die auffällige, etwa 20-fache Aktivitätsabnahme von XX bei Zunahme der Versuchsdauer von 1 auf 4 Tage sowie dessen geringe, anfängliche Hemmwirkung werden erklärlich mit der Vorstellung, daß durch die Tätigkeit von Bakterien-Amidasen *p*-Amino-benzoesäure aus *p*-Amino-benzamid entsteht.

Beschreibung der Versuche³⁴⁾.

5-Nitro-thiophen-carbonsäure-(2)-amid (VII): 1.73 g (0.01 Mol) 5-Nitro-thiophen-carbonsäure-(2) wurden unter Rückfluß 1½ Stdn. mit 6 g (5×0.01 Mol) Thionylchlorid gekocht, dessen Überschuß sich im Vak. bei 50° verjagen ließ³⁵⁾ 18). Der in 2 ccm trockenem Aceton aufgenommene Rückstand kam tropfenweise zu 15 ccm 25-proz. Ammoniakwasser unter Umschütteln. Durch Krystallisieren des Niederschlages aus 150 ccm kochendem Wasser fielen 1.35 g Amid (78% d. Th.) in blaß gelbstichigen Nadelchen vom Schmp. 185–187° an.

$C_5H_4O_3N_2S$ (170.1). Ber. N 16.47. Gef. N 16.34 (Kjeldahl).

5.5'-Dinitro-dithienyl-(2.2')-sulfid (XV): Die heiße Lösung von 12 g Thioharnstoff (0.16 Mol) und 10.4 g 5-Nitro-2-jod-thiophen (0.08 Mol)¹⁸⁾ in 200 ccm trockenem Aceton wurde 4½ Stdn. bei 120° im Rohr erhitzt, wodurch eine schwarzbraune, gerade noch durchscheinende Lösung entstand, die man auf die Hälfte einengte. Bei ihrem Einrühren in 2 l Eiswasser und Versetzen mit 2*n* NaOH bis pH 9 fiel ein grober Niederschlag aus. Nach 1-stdg. Stehen ließ er sich leicht abnutschen und erschöpfend mit kaltem Wasser waschen. Aus 150 ccm Methanol mit Aktivkohlezusatz krystallisierten 2.35 g; die eingeeengte Mutterlauge lieferte 1.0 g dunkler gefärbtes Produkt (Rohausb. 57% d. Th.).

Zuweilen krystallisierte XV in farblosen, langen Nadeln, welche spontan in beständige, fahlgelbe Nadelchen vom Schmp. 104–106° übergangen.

$C_8H_4O_4N_2S_3$ (288.3). Ber. C 33.32, H 1.75, N 9.72, S 33.4. Gef. C 33.43, H 1.47, N 9.62, S 33.3.

In geringer Ausbeute wurde XV auch beim 17-stdg. Kochen unter Rückfluß von 1.25 g 5-Nitro-2-jod-thiophen (0.005 Mol) mit 5 g KSCN (0.05 Mol) in 100 ccm trockenem Aceton erhalten. Den daraus angefallenen Rückstand zog man mit Benzol aus, dampfte die Lösung zur Trockne ein und krystallisierte aus Petroläther und sodann aus Methanol um. Die gelben Nadelchen (etwa 20 mg) vom Schmp. 103–105° gaben im Gemisch mit dem oben beschriebenen Produkt keine Schmp.-Erniedrigung (N-Analyse 9.66%).

Die Reduktion von 0.7 g 5.5'-Dinitro-dithienyl-(2.2')-sulfid (0.0025 Mol) wurde genau so durchgeführt wie beim anschließend beschriebenen Sulfon XIII. Nach der Behandlung mit Essigsäureanhydrid hinterblieb eine grüne Schmiere. Daraus ließen sich nach einigen Tagen auf Ton Krystalle in einer zum Bestimmen des Schmelzpunktes ausreichenden Menge erhalten. Ab 200° färbten sie sich dunkel und schmolzen bei 223–228°.

5.5'-Dinitro-dithienyl-(2.2')-sulfon (XIII): Zur siedendheißen Lösung von 2.9 g Sulfid XV (0.01 Mol) in 120 ccm Eisessig kamen anteil-

³⁴⁾ Alle Schmelzpunkte im Berl.-Block unkorrigiert.

³⁵⁾ J. Rinkes, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 52, 538 [1933].

weise im Verlauf von 10 Min. 4.7 g feingepulvertes KMnO_4 unter Umschütteln, wobei entweichendes SO_2 am Geruch erkenntlich war, was eine teilweise Aufspaltung des Moleküls anzeigte. Die Lösung wurde heiß in 500 ccm Eiswasser gegossen und mit SO_2 entfärbt. Der gut mit Wasser gewaschene Niederschlag gab aus 250 ccm Äthanol 2.15 g XIII (67% d. Th.) in farblosen, geschmacklosen Nadeln vom Schmp. 158—159°; ihre Lösung in konz. Schwefelsäure war farblos und in alkohol. Kalilauge tiefrubinrot.

$\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_6\text{N}_2\text{S}_3$ (320.3). Ber. C 29.97, H 1.26, N 8.75, S 30.1.

Gef. C 29.97, H 1.22, N 8.85, S 30.2.

Auf früher beschriebene Weise¹⁸⁾ wurden 0.8 g XIII (0.0025 Mol) in 150 ccm wassergesättigtem und 250 ccm gewöhnlichem Äther mit 1 g Al-Amalgam reduziert. Nach Verjagen des Äthers im Vak. hinterblieb ein brauner Rückstand, der mit 2 ccm Essigsäureanhydrid unter Erwärmen reagierte. Der Überschuß des Acetylierungsmittels verflüchtigte sich auf dem Wasserbad im Vakuum. Die hinterbliebene Schniure krystallisierte zum Teil im Verlauf eines Tages. Durch Aufstreichen auf Ton und Umlösen aus Benzol mit Aktivkohlezusatz wurden weiße Blättchen (etwa 30 mg) vom Schmp. 154—157° erhalten, die beim Mischen mit 2-Acet-thiophenid²⁹⁾ keine Schmp.-Erniedrigung gaben.

$\text{C}_6\text{H}_7\text{ONS}$ (141.1). Ber. N 9.92. Gef. N 10.08 (Dumas), 10.11 (Kjeldahl).

5.5'-Dinitro-difuryl-(2.2')-sulfid (XVI): Zu der heißen Lösung von 15 g Thioharnstoff (0.2 Mol) in 250 ccm trockenem Aceton kamen 19.2 g 5-Nitro-2-brom-furan (0.1 Mol), welches über 5-Brom-brenzschleimsäure³⁶⁾ nach J. Rinkes²²⁾ durch Austausch der Carboxylgruppe gegen die Nitrogruppe mit Salpetersäure erhalten worden war, und 6.9 trocknes K_2CO_3 (0.05 Mol). Die schnell tiefbraun sich färbende Mischung wurde 8 Stdn. unter Rückfluß gekocht und anschließend in 3 l Eiswasser unter Rühren eingetragen. Ein Zusatz von 2n NaOH brachte die Suspension auf pH 9. Nach dem Stehenlassen im Eisschrank über Nacht ließ sie sich gut abnutschen und erschöpfend mit kaltem Wasser waschen. Der graue Niederschlag krystallisierte aus 125 ccm kochendem Methanol unter Aktivkohlezusatz. Aus dem Rückstand der Mutterlauge gingen mit Wasserdampf 0.2 g nicht verbrauchtes 5-Nitro-2-brom-furan über, und es hinterblieb nach dem Erkalten eine braune, wasserunlösliche Masse, die aus 15 ccm Methanol bei Zusatz von Aktivkohle krystallisierte.

Die vereinten Fraktionen lieferten aus 120 ccm Methanol XVI in Form dünner, glänzender, kaum gelbstichiger Blättchen vom Schmp. 97—99°. Ausb. 9.1 g (71% d. Th.).

$\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_6\text{N}_2\text{S}$ (256.1). Ber. C 37.49, H 1.57, N 10.94, S 12.51.

Gef. C 37.84, H 1.67, N 11.08, S 12.24.

5.5'-Diacetylamino-dithienyl-(2.2')-sulfid (XXVIII): Im Verlauf einer Stde. wurde die Mischung von 1.7 g SCl_2 (0.0165 Mol)³⁷⁾ mit 50 ccm trockenem Benzol unter Rühren und Kühlen durch Leitungswasser zur Lösung von 4.7 g Acet-thiophenid (0.033 Mol) in 800 ccm trockenem Benzol getropft und anschließend 1 Stde. weitergerührt. HCl entwich träge durch ein auf-

³⁶⁾ R. M. Whittaker, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 52, 352 [1933].

³⁷⁾ J. Boeseken, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 25, 214 [1906].

gesetztes CaCl_2 -Rohr. Es entstanden ein weißer Niederschlag und ein grüner, schmieriger Wandbelag, die man auf einer Nutsche gemeinsam sammelte und mit Benzol wusch. Sie lösten sich glatt in 200 ccm 2*n* NaOH. Die filtrierte Lösung wurde mit 2*n* H_2SO_4 auf p_H 3.0 gebracht, der Niederschlag abzentrifugiert, in 200 ccm 0.1 mol. Natriumacetat-Lösung aufgeschlämmt und erneut zentrifugiert. Mit Wasser gewaschen wog das blaß graustichige Produkt 2.8 g (56% d. Th.); es wurde aus Äthanol (Aktivkohlezusatz) durch Einengen im Vak. reinweiß erhalten. Beim Erhitzen wurde es ab 240° dunkel und schmolz bei 248—252° unter Schwarzfärbung. In konz. Schwefelsäure rote Lösung unter Gasentwicklung (SO_2 -Geruch).

$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_2\text{N}_2\text{S}_3$ (312.2). Ber. C 46.13, H 3.85, N 8.97, S 30.80.

Gef. C 46.15, H 4.17, N 8.58, S 30.15.

H_2O_2 , CrO_3 und KMnO_4 gaben mit Eisessiglösungen des Diacetylaminodithienylsulfids stark farbige Lösungen wasserlöslicher Oxydationsprodukte, unter denen sich SO_2 durch den Geruch verriet. Die Absicht, zum Sulfon zu gelangen, ließ sich ferner weder durch Umsetzung von 2-Acet-thiophenid mit Chlorsulfonsäureäthylester³⁸⁾ noch mit SO_2Cl_2 oder SOCl_2 ³⁹⁾ allein oder unter Zusatz von AlCl_3 oder SnCl_4 in Tetrachloräthan oder Schwefelkohlenstoff verwirklichen.

Beim denkbaren Weg über das Sulfonsäurechlorid gelang zwar die Sulfurierung in Eisessig-Essigsäureanhydrid, aber bei der Einwirkung von PCl_5 oder POCl_3 verharzten die Ansätze.

Auch die Umsetzung von 5-Chlormercuri-2-acet-thiophenid mit SOCl_2 versagte⁴⁰⁾. Bezeichnenderweise ließ sich daraus mit SCl_2 ebenfalls nicht das 5.5'-Diacetyl-amino-dithienyl-(2.2')-sulfid (XXVIII) erhalten.

Die Chlormercuri-Verbindung wurde aus alkoholischer 2-Acet-thiophenid-Lösung nach W. Steinkopf mit gesättigter alkohol. Sublimat-Lösung und 33-proz. Natriumacetat-Lösung ausgefällt; nach den gefundenen Regelmäßigkeiten⁴¹⁾³⁹⁾ ist die aus Äthanol reinweiß krystallisierende, bei 233° nach Sintern unter Schwarzfärbung schmelzende Verbindung als 5-Chlormercuri-2-acet-thiophenid anzusprechen.

$\text{C}_6\text{H}_6\text{ONClSHg}$ (376.2). Ber. N 3.72. Gef. 3.47.

5.5'-Diacetyl-amino-dithienyl-(2.2')-disulfid: Im Verlauf einer $\frac{1}{2}$ Stde. wurde die Mischung von 2.25 g S_2Cl_2 (0.0165 Mol) mit 50 ccm trockenem Benzol unter Rühren und Köhlen durch Leitungswasser zu 4.7 g 2-Acet-thiophenid (0.033 Mol) in 800 ccm trockenem Benzol getropft und 1 Stde. weitergerührt. Den schwefelgelben, pulvrigen Niederschlag wusch man mit Benzol und Benzin; Ausb. trocken 4.6 g; Schmelzbeginn bei 90° unter Dunkelfärbung. Durch Soxhlet-Extraktion mit Essigester und Einengen der roten Lösung ließen sich daraus in geringer Ausbeute grüne, glitzernde Kryställchen erhalten, welche bei 218° bis 221° (Zers.) schmolzen.

$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_2\text{N}_2\text{S}_4$ (344.3). Ber. C 41.88, H 3.51, N 8.13. Gef. C 42.15, H 3.68, N 8.11.

Für die eifrige Unterstützung bei den Versuchen danken wir Fr. A. Roehse und Fr. W. Steiner sowie Hr. K. Schröder und Hr. R. Hofmann.

³⁸⁾ L. Wenghöffer, Journ. prakt. Chem. [2] **16**, 459 [1877]. ³⁹⁾ S. Sugawara u. K. Sakurai, C. **1940**, I, 3781.

⁴⁰⁾ J. Volhard, A. **267**, 174 [1892].

⁴¹⁾ W. Steinkopf, A. **424**, 23 [1921].