

wurde aufgearbeitet. Der Niederschlag wog 2.35 g. Bei warmem Umlösen aus 50 ccm absol. Alkohol färbte sich die Lösung tiefrot und hellte sich bei Abkühlung wieder auf. Es kristallisierten 1.3 g leuchtend zitronengelbe Flocken, welche bei 168–170° nach Sintern zu einer tiefroten Schmelze sich verflüssigten. Beim Aufbewahren verschmierten die Krystalle im Verlauf einiger Monate. In konz. Schwefelsäure vorübergehend rubinrote, dann orangefarbene Lösung, in alkohol. Kalilauge vorübergehend rubinrote, dann orange-farbene Lösung.

$C_{13}H_{15}O_4N_2$  (301.1) Ber. C 59.78 H 5.02 N 13.95 Gef. C 59.96 H 5.22 N 14.29.

Hrn. Karl Schröder danke ich für seine treffliche Hilfe bei der Bereitung von Ausgangsmaterialien.

#### 14. Otto Dann und Ernst Friedrich Möller: Über die wachstumshemmenden Eigenschaften von Nitroverbindungen.

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

(Eingegangen am 8. September 1948.)

Die durch verschiedene Nitroverbindungen verursachte Wachstumshemmung wurde an einer Reihe von Bakterien und Pilzen sowie an der Keimung von Kressesamen *in vitro* untersucht.

Einige nitrierte Derivate des Phenyl-thioänyl-(2)-sulfids und des Phenyl-furyl-(2)-sulfids wurden dargestellt.

Bei Staphylokokken haben wir erstmalig eine außergewöhnliche Wachstumshemmung *in vitro* durch Nitroverbindungen des Thiophens und Furans beobachtet. Die wachstumshemmende Wirksamkeit dieser heterocyclischen Nitroverbindungen „ist an eine Reduktion geknüpft“<sup>1)</sup>. Da der gesteigerte Stoffwechsel bei Teilungen von Bakterien und Zellen sich allgemein durch intensive Redox-Vorgänge auszeichnet, dürften Wachstumshemmungen mittels Nitroverbindungen bei einer ganzen Reihe weiterer Bakterien und Zellen erwartet werden.

In eleganter Weise haben R. Kuhn u. D. Jerchel<sup>2)</sup> die Reduktionswirkung von Bakterien und Zellen mit Lösungen von Tetrazoliumsalzen (10–1000  $\gamma$ /ccm) nachgewiesen: Die farblosen, leichtlöslichen Tetrazoliumsalze werden zu den tiefroten, schwerlöslichen, luftbeständigen Formazanen hydriert.

D. Jerchel u. W. Möhle<sup>3)</sup> geben als Potential, bei welchem eine Reduktion von Triphenyl-tetrazoliumchlorid deutlich einsetzt, –83 mV an gegenüber der Normalwasserstoffelektrode bei  $p_H$  7.0. Auf Grund unserer bereits früher mitgeteilten Versuche mit Redox-Indicatoren<sup>1)</sup> dürfte die Nitrogruppe der 5-Nitro-furan-carbonsäure-(2) schon bei Potentialen um etwa –30 mV rasch reduziert werden, die Nitrogruppe der 5-Nitro-thiophen-carbonsäure-(2) erst bei etwa –70 mV; die Nitrogruppen in der 4-Nitro-naphthalin-carbonsäure-(1) und in der 4-Nitro-benzol-carbonsäure dürften schließlich erst bei Potentialen zwischen –110 und –290 mV, vermutlich um etwa –200 mV, rasch reduziert werden. In aeroben Bakterienkultur-Lösungen sind meistens Redox-Potentiale positiver als –200 mV anzutreffen; negativere Werte bilden in luftabgeschlossenen Kulturen von obligaten Anaerobiern die Regel, wo Potentiale von –300 mV und darunter auftreten<sup>4)</sup>.

Ein derartiges Milieu gewährleistet eine rasche Reduktion auch von Nitrobenzol-Verbindungen. Deshalb haben H. Burton, J. W. McLeod, T. S. McLeod u. A. Mayr-Harting<sup>5)</sup> unter zahlreichen geprüften Bakterien gerade bei obligaten pathogenen Anaerobiern eine ausgezeichnete Wachstumshemmung durch *p*-Nitro-benzolsulfonsäureamid mit 20–50  $\gamma$ /ccm Nährlösung beobachten können.

Wenn die Vorstellung zutrifft, daß die Reduktion der Nitroverbindungen eine Voraussetzung für deren spezifisch wachstumshemmende Wirksamkeit

<sup>1)</sup> O. Dann u. E. F. Möller, B. 80, 23 [1947] (eingegangen b.d. Redaktion am 1. August 1944).

<sup>2)</sup> B. 74, 949 [1941].

<sup>3)</sup> B. 77, 591 [1944].

<sup>4)</sup> Siehe A. Janke, Arbeitsmethoden der Mikrobiologie, 2. Aufl. Bd. 1, S. 312–320 (Dresden 1946).

<sup>5)</sup> Brit. Journ. exp. Pathol. 21, 288 [1940].

darstellt, so dürfte z. B. durch Nitrothiophen-Verbindungen das Wachstum solcher Mikroorganismen nicht gehemmt werden, in deren Kulturen niemals und nirgends ein Potential wesentlich negativer als  $-70$  mV anzutreffen ist. Unter diesen Umständen wird aus Triphenyl-tetrazoliumchlorid mit einem anscheinenden Reduktionspotential<sup>3,6)</sup> von  $-83$  mV ebenfalls kein rotes Formazan mehr gebildet.

Um dies festzustellen, verglichen wir die wachstumshemmenden Konzentrationen von 5.5'-Dinitro-dithienyl-(2.2')-sulfid<sup>1)</sup> und von 5.5'-Dinitro-difuryl-(2.2')-sulfid<sup>1)</sup> mit jenen von Penicillin<sup>7)</sup>, Dodecyl-dimethyl-benzyl-ammoniumbromid und 8-Oxy-chinolin (Tafel 1).

In den Querspalten der Tafel 1 sind die Ergebnisse von Parallelversuchen angegeben. Die Zahlen bezeichnen die Anzahl der geprüften Stämme<sup>8)</sup> und die Buchstaben Konzentrationsspannen in  $\gamma/\text{cem}$ : A 0.07–1, B 1–16, C 16–250, D 250–4000.  $4 < A$  bedeutet: Vollständige Wachstumshemmung von 4 verschiedenen Stämmen bei weniger als 0.07  $\gamma/\text{cem}$ .  $18 > C$  bedeutet: Vollständige Wachstumshemmung von 18 verschiedenen Stämmen mit 250  $\gamma/\text{cem}$  noch nicht beobachtbar.

Nährlösung und Versuchsanordnung (sofern nicht in Fußnoten anders vermerkt): 1% Pepton Merck + 1% Pepton Witte + 2% Glucose oder Saccharose-Hydrolysat. — Zu 4.4 ccm der sterilisierten auf  $p_{\text{H}}$  7.2–7.5 eingestellten Grund-Nährlösung sterile Zugabe von je 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 ccm der 0.1/16 bzw. 0.1 oder 1.6-proz. Substanz-Lösungen in Wasser oder Gemisch von Wasser mit 10% gereinigtem  $P_6$ -Lösungsvermittler (BASF, Ludwigshafen) und Ergänzung mit Wasser auf 6.0 ccm Nährlösung. Anschließend Beimpfung mit 1 Öse = 0.003 ccm einer 24-Stdn.-Kultur auf 6 ccm in Reagenzgläsern mit Kapsenberg-Kappen. — Aerobe Bebrütung während 2 Tagen bei 37°. — Wachstumsprüfung durch Trübungsmessung am Lange-Photometer, bei Suspensionen oder dichten Farbstoff-Lösungen durch  $p_{\text{H}}$ -Verschiebung, mikroskopische Musterung oder Plattenaussaat.

Von allen in der Tafel 1 angeführten Mikroorganismen bildete nur *Aspergillus niger* aus Triphenyl-tetrazoliumchlorid in der Nährlösung kein rotes Formazan. Wegen dieses ungenügend negativen Potentials konnte *Aspergillus niger* durch 5.5'-Dinitro-dithienyl-(2.2')-sulfid auch nicht spezifisch gehemmt werden; die schwache Reduktionswirkung reichte dagegen noch aus für das ausgezeichnet hemmende 5.5'-Dinitro-difuryl-(2.2')-sulfid, welches bei positivem Potential reduzierbar ist, und dessen Reduktionsprodukte ganz besonders reaktionsfähig sein dürften; 5.5'-Dinitro-difuryl-(2.2')-sulfid weist ein beachtenswert breites „Wirkungsspektrum“ auf von den Staphylokokken bis zum Schimmelpilz. Die Ergebnisse in der Tafel 1 mit *Mycobacterium avium* und besonders die Ergebnisse mit gramnegativen Darmbakterien sowie mit *Pyocyanus*-Bakterien, welche beide bekanntlich ausgezeichnet reduzieren, zeigen, daß sich von einer kräftigen Formazanbildung aus Triphenyl-tetrazoliumchlorid in einer Bakterienkultur nicht grundsätzlich auf eine Hemmbarkeit dieses Bakteriums durch Nitrothiophen-Verbindungen schließen läßt. Nun zeichneten sich bei den Hemmversuchen mit dem gelben 5.5'-Dinitro-dithienyl-

<sup>6)</sup> D. Jerchel, FIAT Review of German Science, Bd. 39, S. 64 (Wiesbaden 1947).

<sup>7)</sup> Es war ein 10-proz. Penicillinpräparat britischer Herkunft verwandt worden; die angegebenen Werte sind umgerechnet auf Rein-Penicillin.

<sup>8)</sup> Für die entgegenkommende Überlassung der meisten Bakterienstämme aus laufenden Untersuchungen und aus der Sammlung sowie für die freundliche Gewährung einer Arbeitsmöglichkeit als Gast an den einen von uns (O. D.) sind wir dem Hygien. Institut der Universität Heidelberg, vor allem Fr. E. Uhl und den Herren Dr. K. F. Binägel, Dr. J. Hammacher und Dr. E. Kraus zu aufrichtigem Dank verpflichtet.

Tafel 1. Vergleich der vollständig wachstumshemmenden Konzentrationen in  $\gamma$ /ccm Nährlösung.

	Penicillin	Dodecyl-dimethylbenzylammoniumbromid	8-Oxy-chinolin	5,5'-Dinitro-difuryl-(2,2')-sulfid	5,5'-Dinitro-dithienyl-(2,2')-sulfid	Sulfathiazol
A = 0.07- 1 $\gamma$ /ccm B = 1 - 16 " C = 16 - 250 " D = 250 - 4000 "						
<i>Staphylococcus aureus</i> 18 Stämme (St.)	4 < A 11 A 2 B 1 C	3 A 13 B 2 C	17 B 1 C	1 A 10 B 7 C	2 A 12 B 4 C	18 > C
<i>Streptococcus pyogenes</i> 14 St.	8 < A 4 A 2 B	1 A 13 B	1 A 12 B 1 C	7 B 7 > B	1 A 5 B 8 > B	2 C 12 > C
<i>Corynebact. diphtheriae</i> 3 St.	3 A	1 A 2 B	3 B	3 C	3 C	3 D
<i>Bacillus anthracis</i> <sup>9)</sup>		D	> D	D	D	> D
<i>Blastomyces</i> <sup>10)</sup> 7 St.	7 > B	6 B 1 C	7 B	7 C	4 B 3 C	7 > C
<i>Eremothecium Ashbyi</i>		A	B	B	B	> C
<i>Bact. Coli</i> 9 St.	8 B 1 > B	3 B 6 C	9 C	7 B 2 C	9 > C	9 > C
<i>Proteus vulgaris</i> 10 St.	5 B 5 C	10 C	8 C 2 > C	8 B <sup>11)</sup> 2 C	10 > C	2 C 8 > C
<i>Bact. typhi</i> 4 St.	1 A 2 B 1 C	2 B 2 C	1 B 3 C	2 B 2 C	4 > B	4 > C
<i>Salmonella Schottmüll.</i> 5 St.	1 A 4 B	1 B 4 C	5 C	5 C	1 C 4 > C	4 > C
<i>Pseudomonas pyocyanea</i> 4 St.	4 > B	3 C 1 > C	2 C 2 D	2 C 2 > C	4 > C	4 > C
<i>Aspergillus niger</i> <sup>12)</sup>		C	B	B	> C	> C
<i>Mycobact. avium</i> <sup>13)</sup>			> C	> C	> C	D

(2.2')-sulfid gerade die Ansätze der nichtgehemmten gramnegativen Darmbakterien und Pyocyaneus-Bakterien nach zweitägiger Bebrütung durch eine tiefe Rotfärbung aus. Der Verdacht auf gebildete Azo-Reduktionsprodukte verstärkte sich, nachdem einige präparativ dargestellte Azo-Thiophenverbindungen<sup>14)</sup> das Wachstum von Staphylokokken *in vitro* nicht beeinflussten. Die Annahme einer biochemischen Reduktion der Nitrothiophen-Verbindung zu Azoverbindungen durch Pyocyaneus-Bakterien wurde weiter gestützt durch die bekannte Beobachtung, daß die Kulturlösungen nach zweitägiger Bebrütung alkalisch reagierten im Gegensatz zu den meist sauer reagierenden Kulturlösungen der übrigen in der Tafel 1 aufgeführten Mikroorganismen.

Erfahrungsgemäß werden bei der präparativen Reduktion von Nitrobenzol-Verbindungen in stark saurer Lösung Aminoverbindungen als Hauptreaktionsprodukte gefaßt, bei der Reduktion in schwach saurer Lösung Nitroso- und hauptsächlich Oxylaminverbindungen, während bei der Reduktion in alkalischer Lösung kondensierte, sekundäre Reaktionsprodukte, Azoxy-, Azo- und Hydrazoverbindungen anfallen. Außerdem beobachtet man besonders bei der elektrochemischen Reduktion, daß die Nitro-Stufe wesentlich leichter zur Oxylamino-Stufe hydriert wird als die Oxylamino-Stufe zur Amino-Stufe. Bei der präparativen Reduktion von Nitrothiophen- und Nitrofuranylverbindungen hat man bisher nur die Aminoverbindungen gefaßt<sup>15)</sup>; die gemachten Beobachtungen sprechen für einen Reduktionsablauf wie bei den Nitrobenzol-Verbindungen. Der Unterschied dürfte nur in der wesentlich größeren Reaktionsfreudigkeit der heterocyclischen Zwischenstufen liegen. Die Annahme erscheint gerechtfertigt, daß die biochemische Reduktion von Nitrothiophen- und Nitrofuranylverbindungen nach den Grundzügen der Reduktion von Nitrobenzol-Verbindungen abläuft.

Ein wesentlicher Unterschied zwischen antibakteriellen Nitroverbindungen und antibakteriellen Chinonen<sup>16)</sup> sowie antibakteriellen Redox-Farbstoffen<sup>17)</sup> besteht darin, daß Nitroverbindungen und ihre Reduktionsprodukte nicht in

<sup>9)</sup> Die Versuche mit dem Stamm Prag I verdanken wir Hrn. Dr. W. Hausam, welcher sie 1944 am Kaiser-Wilhelm-Institut für Lederforschung, Dresden (Direktor: Prof. Dr. W. Grassmann) durchführte; D bedeutet 1000  $\gamma$ /ccm. Impfmenge: 0.1 ccm einer 24-Stdn.-Kultur/3 ccm Peptonbouillon.

<sup>10)</sup> Hefen vom Institut für Gärungsgewerbe, Berlin; Brennereihefe Rasse D, Rasse M; *Willia anomala*; untergär. Bierhefe, Stamm 1103; *Saccharomyces Marxianus*; *Torula utilis*; Weinhefe (Tokayer).

<sup>11)</sup> Der B-Wert von 16  $\gamma$  verschiebt sich am 3. Bebrütungstag auf 32–64  $\gamma$ .

<sup>12)</sup> Die Versuche mit *Aspergillus niger* verdanken wir Frl. Dr. A. Gauhe: Ansätze in 50 ccm-Erlenmeyer-Kölbchen, mit je 15 ccm steriler Nährlösung (8.6 g Rohrzucker, 1 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.6 g  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 0.15 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  in 80 ccm Wasser) vom pH 4.5; dazu 3 ccm sterile Substanz-Lösung in Wasser oder verd. Alkohol (Pilzwachstum in Nährlösung mit 5% Alkohol vollkommen gehemmt, mit 2.5% Alkohol Mycelgewicht nach 4 tägig. Wachstum wie in Kontrollen). Beimpft mit 0.75 ccm einer Konidiensuspension. Bruttemp. 28°; Ablesedauer 3 Tage. Herstellung der Konidiensuspension: Schrägagarröhrchen mit Czapek-Dox-Nährboden (40 g Rohrzucker, 20 g Agar, 3 g  $\text{NaNO}_3$ , 1 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.5 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ , 0.5 g KCl, 0.01 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  in 1000 ccm Wasser) ausgiebig beimpft, nach etwa 14 Tagen Konidien mit 25 ccm Wasser abspülen, Suspension durch Watte gießen.

<sup>13)</sup> Frau A. Birkofer verdanken wir die anspruchsvollen Versuche mit *Mycobacterium avium*, Stamm Stein, des Patholog.-anatom. Instituts der Univ. Wien, auf Hohn-schem Nährboden (Substrat IV). Nötigenfalls wurden die lipidlöslichen Stoffe in dem Gemisch von Eigelb und Eiweiß gelöst; mit den beiden Nitroverbindungen XXIV und XXVI (Tafel 2, S. 85) färbten sich die fertigen Nährböden rot an.

<sup>14)</sup> O. Dann, B. 82, 72 [1949].

<sup>15)</sup> Siehe W. Steinkopf, Die Chemie des Thiophens (Dresden 1941); O. Dann, B. 76, 419 [1943].

<sup>16)</sup> Literaturangaben bei R. Kuhn u. H. Beinert, B. 80, 101 [1947].

<sup>17)</sup> R. Dubos, Journ. Experiment. Medicine 49, 575 [1929]; M. A. Ingraham, Journ. Bacteriol. 26, 573 [1933].

einem Redox-Gleichgewicht miteinander stehen. Nitrogruppen werden erst von gewissen, konstitutionell bedingten negativen „anscheinenden Reduktionspotentialen“<sup>18)</sup> ab merklich rasch hydriert. Dadurch können die Potentiale wenig beschwerter, negativerer Redox-Systeme bis zu diesen „anscheinenden Reduktionspotentialen“ positiviert werden.

R. L. Mayer u. Ch. Oechslin<sup>19)</sup> sowie später besonders H. Burton, J. W. McLeod, T. S. McLeod u. A. Mayr-Harting<sup>5)</sup> haben *p*-Oxyamino-benzolsulfonsäureamid als eigentlich antibakteriell wirksames Umwandlungsprodukt sowohl von *p*-Nitro-benzolsulfonsäureamid als auch von *p*-Aminobenzolsulfonsäureamid angesprochen. Die von uns bei den verschiedensten Nitroverbindungen beobachteten Wachstumshemmungen lassen sich mit der Vorstellung vereinbaren, daß die Teilung eines Mikroorganismus durch irgendeine Nitroverbindung spezifisch gehemmt werden kann, wenn im Mikroorganismus eine Mindestkonzentration an monomolekularem Reduktionsprodukt zwischen der Nitro- und der Amino-Stufe, wahrscheinlich an Oxyaminoverbindung, über eine ausreichende Zeitspanne hinweg vorhanden ist.

Bei Wachstumshemmungs-Versuchen *in vitro* sollten demnach von vornherein alle jene Nitroverbindungen als unwirksam ausscheiden, welche nirgends in der Kultur auf ein zu ihrer raschen Reduktion ausreichend negatives Potential stoßen, und ebenso sollten von vornherein die Kulturen jener Mikroorganismen ausscheiden, welche überhaupt kein ausreichend beschwertes negatives Potential aufweisen. Als Beispiel für den ersten Fall könnten Nitrobenzol- und Nitrothiophen-Verbindungen bei *Aspergillus niger* angeführt werden, dessen Wachstum u. a. wohl durch *p*-Oxyamino-benzolsulfonsäureamid spezifisch verhindert wird, nicht aber durch *p*-Nitro-benzolsulfonsäureamid<sup>19)</sup>. Beispiele für den zweiten Fall werden sich wohl unter den Bakterien finden lassen, welche die Oxydase-Reaktion geben, wie die von M. N. Green u. St. Mudd<sup>20)</sup> aufgefundene Unempfindlichkeit von Pneumokokken<sup>21)</sup> gegen 5-Nitro-furfuralsemicarbazon (XVIII, Tafel 2) andeutet.

Obwohl *Mycobacterium avium*-Kulturen<sup>13)</sup> aus Triphenyl-tetrazoliumchlorid, welches dem Hohnschen Eiernährboden zugefügt worden war, allmählich deutlich rotes Formazan bildeten, waren sie ganz unempfindlich gegen die höchsterreichbare Konzentration von 1000  $\gamma$ /cem an 5.5'-Dinitro-difuryl-(2.2')-sulfid: vermutlich wurde die Mindestkonzentration an Oxyamino-Stufe in-

<sup>18)</sup> Siehe J. B. Conant, Chem. Reviews **3**, 1 [1926].

<sup>19)</sup> Compt. rend. Acad. Sciences **205**, 181 [1937]; Bull. Acad. Méd. **117**, 727 [1937]. Den inzwischen entdeckten Antagonismus der *p*-Amino-benzoesäure gegen *p*-Aminobenzolsulfonsäureamid, welcher weder gegenüber *p*-Nitro-benzolsulfonsäureamid noch gegenüber anderen Nitroverbindungen beobachtet wird, könnte man so zu erklären versuchen, daß *p*-Amino-benzoesäure lediglich mit der Oxydation des Sulfanilamids zum *p*-Oxyamino-benzolsulfonsäureamid interferiert, nicht aber mit der wachstumshemmenden Wirkung des letztgenannten. Befremdlich an dieser Vorstellung eines Wirkungswegs des Sulfanilamids über die Oxyamino-Stufe erscheint besonders die außerordentliche Substratspezifität dieser Oxydation, welche sich fast ausschließlich auf Sulfanilsäure und deren Abkömmlinge beschränkt, sowie die Tatsache, daß die Spanne zwischen bakteriostatischer und baktericider Wirksamkeit bei Sulfonamiden größer als bei Nitroverbindungen ist.

<sup>20)</sup> Proc. Soc. Exper. Biol. Med. **64**, 57 [1947].

<sup>21)</sup> L. F. Hewitt, Biochem. Journ. **24**, 1551 [1930]; **25**, 169 u. 858 [1931].

folge des langsamen Wachstums nie erreicht. Dafür sprach die Beobachtung, daß sich mit 1000  $\gamma$ /ccm des leichter reduzierbaren  $\omega$ -Nitro-styrols (XLI, Tafel 2) eine schwache Hemmwirkung beobachten ließ<sup>22)</sup>.

Eine geringe Empfindlichkeit gegen Nitroverbindungen trotz ausgezeichneter Reduktionsleistung sollten alle alkalisch reduzierenden Mikroorganismen mit den Pyocyaneus-Bakterien teilen, da bei diesen die Kondensation der Oxyamino- mit der Nitroso-Stufe begünstigt ist. In Agarplatten-Kulturversuchen<sup>5)</sup> wurde das Wachstum von Pyocyaneus-Bakterien durch *p*-Oxyaminobenzolsulfonsäureamid bei 8-fach geringerer Konzentration unterbunden als durch *p*-Nitro-benzolsulfonsäureamid. Damit wird die Erklärungsmöglichkeit ausgeschaltet, wonach Pyocyaneus-Bakterien ausnahmsweise unempfindlich gegen Oxyaminoverbindungen sein könnten.

Nicht angedeutet fanden wir bisher bei unseren Versuchen mit Nitroverbindungen den denkbaren Fall, daß die hemmende Konzentration an Oxyaminoverbindung wegen zu rascher Reduktion zur Aminoverbindung unerreicht bleiben würde<sup>23)</sup>.

Abhängigkeit der baktericiden Konzentration von der Einwirkungszeit.

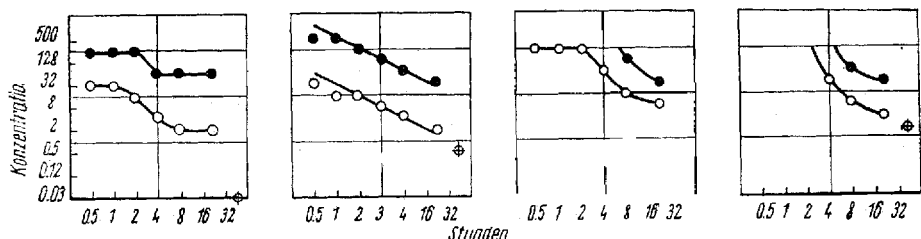


Abb. 1. Penicillin<sup>7)</sup>

2. Dodecyl-dimethyl-benzyl-ammonium-bromid

Abb. 3. 5,5'-Dinitro-furfuryl-(2,2')-sulfid

Abb. 4. 5,5'-Dinitro-dithienyl-(2,2')-sulfid

Abzissen: Einwirkungszeit i. Stdn. bei 37°. Ordinaten: Konzentration der Hemmstoffe in  $\gamma$ /ccm Traubenzucker-Peptonwasser. Staphylokokken-Stamm 1648.

○ bedeutet, daß 1 Öse = 0.003 ccm einer 24 Stdn.-Kultur (1 emm =  $4 \times 10^5$  Kokken; Trübungswert 670) zur Beimpfung von je 6 ccm der Verdünnungsreihe in Nährlösung verwandt wurde. Nach den angegebenen Zeiten wurde daraus je 1 Öse auf 6 ccm frischer Nährlösung überimpft und nach zweitägiger Bebrütung bei 37° das Röhrchen der Verdünnungsreihe ermittelt, in dem die Staphylokokken so geschädigt worden waren, daß sie nicht mehr anwachsen.

● bedeutet, daß 4.4 ccm einer 24 Stdn.-Kultur durch Zusatz der notwendigen, in Nährlösung gelösten Substanzmengen auf je 6 ccm der Verdünnungsreihe gebracht wurden; weitere Behandlung wie vorstehend beschrieben<sup>24)</sup>.

⊕ wachstumshemmende Konzentration für 1 Öse nach Tafel I.

<sup>22)</sup> Das Thiosemicarbazon des 5-Nitro-furfurols zeigt mit 1000  $\gamma$ /ccm keine Wachstumshemmung.

<sup>23)</sup> Auf diese Möglichkeit weist die Tatsache hin, daß obligate Anaerobier zur Wachstumshemmung in Bouillon durch *p*-Oxyamino-benzolsulfonsäureamid 15–20mal so hohe Konzentrationen benötigten als zur Wachstumshemmung durch *p*-Nitro-benzolsulfonsäureamid<sup>5)</sup>.

<sup>24)</sup> Eingezeichnet sind die Mittelwerte aus mehreren Versuchen, welche mit der großen Impfmenge besonders gut reproduzierbar waren. Erhebliche Schwankungen traten nur mit der kleinen Impfmenge beim stark  $pH$ -abhängigen 8-Oxy-chinolin auf. Wachstumshemmung von Hefe, Rasse M, in synthet. Nährlösung durch 8-Oxy-chinolin bei  $pH$  6.6 mit 1  $\gamma$ /ccm, bei  $pH$  3.2 mit 130  $\gamma$ /ccm; durch Natriumazid bei  $pH$  6.6 mit 130  $\gamma$ /ccm, bei  $pH$  3.2 mit 1  $\gamma$ /ccm.

Bei den Wachstumshemmungs-Versuchen (Tafel 1) war immer wieder aufgefallen, welch geringe Spanne bei 5.5'-Dinitro-dithienyl-(2.2')-sulfid und 5.5'-Dinitro-difuryl-(2.2')-sulfid zwischen der vollständig hemmenden und der gänzlich unwirksamen Konzentration für ein Bakterium lag. Dies deutete auf erhebliche baktericide Eigenschaften hin, die wir an einem Staphylokokken-Stamm verglichen haben mit Penicillin<sup>7)</sup> und Dodecyl-dimethyl-benzyl-ammoniumbromid.

Der weitgehend lineare Kurvenverlauf in Abbild. 2 mit der Invertseife erfüllt in dem geprüften Bereich die auch für andere Vergiftungen gültige Beziehung, wonach das Produkt aus Konzentration mal Zeit konstant ist.

Eine dem Penicillin ähnliche Charakteristik besitzen die Nitroverbindungen: Erst nach einer „Verzögerungszeit“ von Stunden setzt die spezifische Wirksamkeit der Nitroverbindungen scharf ein. Die nahe beieinander liegenden Kurvenzüge für die rund 1 : 1500 verschiedenen Bakterieneinsaaten und die nahe beieinander liegenden 24 Stdn.-Werte für bakteriostatische und baktericide Wirksamkeit fallen auf<sup>25)</sup>. Durch Zusatz von 10–25% Rinderserum zur Nährlösung verschlechtern sich die Wirkungen der beiden Nitroverbindungen nur unwesentlich. Die baktericide Eigenart der Nitroverbindungen drückt sich in unseren Versuchen am klarsten in dem Zahlenverhältnis aus zwischen der Konzentration, welche zur 48-stdg. Wachstumshemmung der Staphylokokken in 0.003 cem Impfkultur notwendig ist, und der Konzentration, welche zur Abtötung der Staphylokokken nach 24 Stdn. in 4.4 cem Impfkultur notwendig ist. Dieses Zahlenverhältnis lautet für Penicillin 1 : 2000, für 8-Oxy-chinolin 1 : 1000<sup>26)</sup>, für Dodecyl-dimethyl-benzyl-ammoniumbromid 1 : 64, für 5.5'-Dinitro-dithienyl-(2.2')-sulfid 1 : 16 und für 5.5'-Dinitro-difuryl-(2.2')-sulfid 1 : 8.

Es liegt recht nahe, das Ende der „Verzögerungszeit“ in den Abbild. 3 u. 4 mit dem Beginn des logarithmischen Wachstums in der Bakterienkultur zu verknüpfen. Der Beginn dieser Phase ist nach W. C. Frazier u. E. O. Whittier<sup>27)</sup> charakterisiert durch einen steilen Abfall des Redox-Potentials in der Kulturlösung. Nach Ablauf der „Verzögerungszeit“ dürfte das zur raschen Reduktion der Nitrogruppen jeweils erforderliche negative Mindestpotential in der gesamten Kulturlösung sich einstellen<sup>4)</sup>. Die bemerkenswerte Unempfindlichkeit der Nitroverbindungen gegen große Einsaaten spricht für die Vorstellung, daß die reaktionsfähigen Oxyaminoverbindungen in erster Linie im Bakterium selbst entstehen, wo sie durch Nebenreaktionen in geringem Maße abgefangen werden. Dagegen dürften der Kulturlösung zugefügte Oxyaminoverbindungen vor der Resorption durch Nebenreaktionen in erheblicherem Ausmaße abgefangen werden. Dies ist beim

<sup>25)</sup> Für *p*-Nitro-benzolsulfonsäureamid wurde von McLeod u. Mitarbb.<sup>5)</sup> ebenfalls Unempfindlichkeit gegen große Einsaaten bei Agarplatten-Kulturen berichtet.

<sup>26)</sup> Wachstumshemmung nach Tafel 1 mit 4  $\gamma$ /cem, Abtötung der großen Impfmenge nach Abbild. 1–4 mit 4000  $\gamma$ /cem.

<sup>27)</sup> Journ. Bacteriol. **21**, 239 [1931].

Vergleich der Wirksamkeit von Nitro- und Oxyamino-Stufe zu berücksichtigen.

In erster Linie wird die Wirksamkeit oder Unwirksamkeit von organischen Nitroverbindungen bei Wachstumshemmungs-Versuchen (Tafel 2) durch den Charakter des Kohlenstoffatoms bestimmt, welches die Nitrogruppen trägt. Gesättigte Nitroverbindungen wie Nitroäthan (XXXVIII, Tafel 2), Nitromethan und Tetranitromethan wirken nicht spezifisch teilungshemmend. Die Nitrogruppe an einem ungesättigten Kohlenstoffatom ist bei um so negativeren Potentialen reduzierbar und die Reduktionsprodukte sind um so beständiger, je stärker das freie Elektron des ungesättigten Kohlenstoffatoms in einem aromatischen Ringgebilde festgelegt ist. In derselben Reihenfolge — Benzol, Thiophen, Furan, Äthylen —, in der die Reduzierbarkeit der Nitroverbindungen zunimmt, nimmt auch die im Zungentest verfolgbare Reizwirkung und die Toxizität zu<sup>28)</sup>.

Bei den am leichtesten reduzierbar erscheinenden Nitroäthylenen läßt sich die Oxyamino-Stufe nur mehr umgelagert als Oxim (XLI → XLV) fassen und die zugehörige Amino-Stufe allenfalls als Äthylenimin. Der Schwerpunkt des Wirkungsspektrums der Nitroäthylene (XXXVII, XXXIX—XLV) liegt in unseren Versuchen bei *Aspergillus niger*, dessen Kulturen unter den in der Tafel 2 angeführten Mikroorganismen das geringste Reduktionsvermögen aufweisen. Das häufig bewährte „Verdoppelungsprinzip“ führt auch bei den Nitroäthylenen zu einem verbesserten Wirkungsspektrum (XXXIX—XL; XLI—XLII, XLIII).

Obwohl der Schwerpunkt des Wirkungsspektrums einer Nitroverbindung durch den Charakter des Kohlenstoffatoms bestimmt wird, welches die Nitrogruppe trägt, und welches nur in verhältnismäßig geringem Umfang durch Substituenten beeinflussbar ist, können Resorption, Verankerung, Beständigkeit und Abbau des Gesamtmoleküls ausschlaggebend von Substituenten beeinflusst werden. Diese vermögen außerdem noch zusätzliche Wirkgruppen in das Molekül hineinzubringen. Es ist demnach zu erwarten, daß sich das Wirkungsspektrum einer Nitrogruppe maßgeblich durch Substituenten im Träger verändern läßt.

Einige der sich bietenden zahlreichen Möglichkeiten haben wir in der Thiophen- und Furan-Reihe studiert. Da dieselben Änderungen des Trägermoleküls der Nitrogruppe sich in beiden Reihen gleichsinnig bemerkbar machten, verfolgten wir im allgemeinen den Einfluß eines Substituenten nur in einer Reihe. Wie bei vielen anderen physiologisch aktiven Verbindungen erscheint ein neutraler Träger der Nitrogruppe mit gewisser Lipoidlöslichkeit zur Resorption am vorteilhaftesten. Nachteilig ist stets ein negatives Ion als Träger.

Neben herkömmlichen Mikroorganismen wurde auch *Eremothecium Ashbyii* als Testobjekt herangezogen. Seine Kulturlösungen<sup>29)</sup> sind tiefgelb ge-

<sup>28)</sup> 2-Brom-5-nitro-furan (VII) fällt beim Arbeiten durch besonders unangenehme Eigenschaften auf; es erzeugt auf der Haut schmerzhafte Blasenbildung unter Rotfärbung.

<sup>29)</sup> A. Mirimanoff u. A. Raffy, Helv. chim. Acta 21, 1004 [1938].



färbt von der oxydierten Form des natürlichen Redox-Farbstoffes Lactoflavin mit dem Redoxpotential  $E_0' = -185$  mV nach R. Kuhn u. P. Boulanger<sup>30)</sup>. Da der Kulturlösung zugefügtes Triphenyl-tetrazoliumchlorid schnell zum Formazan hydriert wird, ist in den Kulturen ein Potential zwischen  $-83$  mV und  $-185$  mV vorhanden. Die Nitrogruppe am Benzolring sollte demnach von *Eremothecium Ashbyii* nicht ausreichend reduziert werden, dagegen müßte die Nitrogruppe am Thiophenring zur Wachstumshemmung ausreichend reduziert werden: Die Beispiele XXII, XXIII, XXIV der Tafel 2 erfüllen diese Forderung.

Die meisten der geprüften, einkernigen Nitrothiophene und Nitrofurane sind lange bekannt gewesen, ohne daß man um ihre wachstumshemmenden Eigenschaften wußte. Neue zweikernige Verbindungen, welche eine 5-Nitro-furan- oder -thiophen-Hälfte über eine Schwefelbrücke mit dem Benzolring verknüpft enthalten, haben sich unschwer aus den bekannten Bausteinen 2-Brom-5-nitro-furan (VII)<sup>31)</sup> oder 2-Jod-5-nitro-thiophen (V)<sup>31)</sup> einerseits und den Natriumsalzen der entsprechend substituierten Thiophenole andererseits in absol. Alkohol zusammensetzen lassen (XXIII, XXV, XXXI, XXXII).

Bei der Oxydation der Sulfide zu den Sulfonen mit Kaliumpermanganat in Eisessig fallen die Ausbeuten in der Furanreihe gegen die Ausbeuten in der Thiophenreihe auffällig ab; neben der Schwefelbrücke werden die Doppelbindungen des Furanrings in viel stärkerem Maße oxydiert, als dies beim aromatischeren Thiophenring der Fall ist. Bei der sauren Spaltung der Acetylaminoverbindungen XXXII und XXXIV kann durch Anwendung von methanolischer Salzsäure die Empfindlichkeit des Furanrings überwunden werden. Die freigelegte Aminogruppe in XXXIII und XXXV ist zu allen Umsetzungen einer aromatischen Aminogruppe befähigt und eröffnet den Weg zu den zahlreichen Abwandlungen, welche die Chemie der Sulfonamide auszeichnet<sup>32)</sup>.

Der gleichzeitigen Einführung von zwei Nitrogruppen setzen die zweikernigen Furan-Derivate 2-Furoyl-thiophen<sup>33)</sup> und 5.5'-Dinitro-furyl-(2.2')-sulfid (XXVI) einen überraschenden Widerstand entgegen. Dem mit nur 2-proz. Ausbeute erhaltenen Dinitro-2-furoyl-thiophen wird als wahrscheinlichste Formel die eines 5-Nitro-2-[5-nitro-furoyl]-thiophens (XXVIII) zugeschrieben werden dürfen. Die zusätzliche Einführung zweier Nitrogruppen in XXIV ergibt wohl das 3.3'.5.5'-Tetranitro-dithienyl-(2.2')-sulfid (XXX) und die Einführung einer Nitrogruppe in XXVI das 3.5.5'-Trinitro-difuryl-(2.2')-sulfid (XXIX).

Bei den einfachsten Substituenten fällt der günstige Einfluß der Ketomethylgruppe an der Wachstumshemmung von Hefen auf im 5-Nitro-2-acetylthiophen (IX)<sup>34)</sup>; die Ketogruppe braucht dabei nicht oximiert (vergl. Formel X)





<sup>30)</sup> B. 69, 1557 [1936].

<sup>31)</sup> J. Rinkes, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 50, 981 [1931]; 53, 648 [1934].

<sup>32)</sup> Siehe E. H. Northey, Chem. Rev. 27, 85 [1940]; F. Mietzsch, Angew. Chemie, Beihefte Nr. 54 [1945].

<sup>33)</sup> H. Gilman, L. W. Rowe u. J. B. Dickey, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 52, 395 [1933]. <sup>34)</sup> J. Rinkes, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 52, 538 [1933].

Tafel 2. Vergleich der vollständig wachstumshemmenden Konzentrationen von Nitroverbindungen in  $\gamma$ /cem Nahrungslosung.

$\cdot C_6H_4 =$ 	$\cdot C_6H_4S =$ 	Staphylococc.	Streptobact.	Bact. Coli	Hefe. Mischrasse M	Asperg. niger	Eremothec. Ashbyii
$\cdot C_{10}H_8 =$ 	$\cdot C_6H_4O =$ 	Stamm 1648	Stamm 0 SIG				
I $O_2N \cdot C_6H_4 \cdot CO \cdot NH_2$ .....		2000			4000		
II $O_2N \cdot C_{10}H_8 \cdot CO \cdot NH_2$ .....		>1000					
III $O_2N \cdot C_6H_4S \cdot CO \cdot NH_2$ .....		8			32	1000	
IV $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot CO \cdot NH_2$ .....		16	>130	130	500	1000	64
V $O_2N \cdot C_6H_4S \cdot J$ .....			8		130		
VI $O_2N^2 \cdot C_6H_4S \cdot J$ .....		8			64		
VII $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot Br$ .....		32			32	10	
VIII $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot NO_2$ .....		130	>250		64	10	
IX $O_2N^2 \cdot C_6H_4S \cdot COCH_3^2$ .....		32	>1000		8	100	
X $O_2N \cdot C_6H_4S \cdot C(NOH) \cdot CH_3$ .....		32			32		
XI $O_2N^4 \cdot C_6H_4S \cdot COCH_3^2$ .....		250	>1000		1000	>1000	
XII $O_2N^4 \cdot C_6H_4S \cdot [C(NOH) \cdot CH_3]^2$ .....		250	1000		250	1000	
XIII $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot CH_2OH$ .....		32			130	>100	
XIV $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot CH_2OCOCH_3$ .....		64	500				
XV $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot CHO$ .....		32	>1000	130	250	100	
XVI $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot CH(OCOCH_3)_2$ .....		64		250	250		
XVII $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot CH \cdot NOH$ .....		4	130	8	64	100	
XVIII $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot CH : N \cdot CO \cdot NH \cdot NH_2$ .....		4	130	8	>250	>100	
XIX $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot CH : N \cdot C(NH) \cdot NH_2$ .....		2		130	>1000		
XX $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot CH : N : N \cdot HC \cdot C_6H_4O \cdot NO_2$ .....		16		130	130		
XXI $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot CH : N \cdot C_6H_4 \cdot OH^2$ .....		16	1000		250	1000	
XXII $O_2N \cdot C_6H_4 \cdot S \cdot C_6H_4 \cdot NO_2$ .....							>16
XXIII $O_2N \cdot C_6H_4S \cdot S \cdot C_6H_4 \cdot NO_2$ .....							>16
XXIV $O_2N \cdot C_6H_4S \cdot S \cdot C_6H_4S \cdot NO_2$ .....		8	32	>250	8	>100	4
XXV $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot S \cdot C_6H_4 \cdot NO_2$ .....		4	16		8	10	1
XXVI $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot S \cdot C_6H_4O \cdot NO_2$ .....		8	16	16	16	10	16
XXVII $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot SO_2 \cdot C_6H_4 \cdot NO_2$ .....		130	64		32	>100	
XXVIII $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot CO \cdot C_6H_4S \cdot NO_2$ .....		32	>64		16	>100	
XXIX $O_2N^2 \cdot C_6H_4O \cdot S \cdot C_6HO(NO_2)_2^{2,5}$ .....		32	130		130	>10	
XXX $(O_2N)_2 \cdot C_6H_4S \cdot S \cdot C_6HS(NO_2)_2^{2,5}$ .....		>16	250		250		
XXXI $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot S \cdot C_6H_4 \cdot Cl$ .....		130	250	>250	16		
XXXII $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot S \cdot C_6H_4 \cdot NH \cdot COCH_3$ .....		8	64		8	10	8
XXXIII $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot S \cdot C_6H_4 \cdot NH_2$ .....		130	64		16	100	1
XXXIV $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot SO_2 \cdot C_6H_4 \cdot NH \cdot COCH_3$ .....		16	64		16	100	8
XXXV $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot SO_2 \cdot C_6H_4 \cdot NH_2$ .....		16	64		64	>100	4
XXXVI $O_2N \cdot C_6H_4O \cdot S \cdot C_6H_4 \cdot NH \cdot CO \cdot CH_3 \cdot CH_2 \cdot CO_2H$ .....		250	500		250		
XXXVII $O_2N \cdot CH : CH \cdot CH_3 \cdot CH_2 \cdot CH_3$ .....		500	2000		2000	100	>250
XXXVIII $O_2N \cdot CH_2 \cdot CH_3$ .....		4000	>1000		>4000	>1000	>250
XXXIX $O_2N \cdot CH : CH \cdot C_6H_5O$ .....		>1000			250	10	>16
XL $O_2N \cdot CH : CH \cdot C_6H_4O \cdot NO_2$ .....		64	250		130	10	>16
XLI $O_2N \cdot CH : CH \cdot C_6H_5$ .....		250	250		130	10	16
XLII $O_2N \cdot CH : CH \cdot C_6H_4 \cdot NO_2$ .....		16			64	100	
XLIII $O_2N \cdot CH : CH \cdot C_6H_4 \cdot CH : CH \cdot NO_2^{2,5}$ .....		64			22	100	2
XLIV $O_2N \cdot C(CH_3)_2 \cdot CH \cdot C_6H_5$ .....		64	130	130	32		
XLV $HON : CH \cdot CH_2 \cdot C_6H_5$ .....						100	

<sup>25)</sup> Das leicht wasserlosliche „Kaliumsalz“, welches bei der Darstellung nach J. Thiele, B. 82, 1295 [1899] erhalten wird, wirkt nicht bakterio- statisch.

zu sein<sup>34</sup>). Die nach der *meta*-Stellung dirigierte Nitrogruppe im 4-Nitro-2-acetyl-thiophen (XI)<sup>34</sup>) erinnert daran, daß die  $\beta$ -ständigen Kohlenstoffatome im Thiophen „benzolähnlich“ sind und Substituenten reaktionsträge machen. Besonders auffällig unterscheiden sich die stellungsisomeren Nitro-acetyl-thiophene IX und XI bei Hefe. Die *meta*-ständige Nitrogruppe in XI wird wahrscheinlich schwerer reduzierbar sein als die nach der *para*-Stellung dirigierte in IX, V, III<sup>1</sup>) oder die nach der *ortho*-Stellung dirigierte in VI<sup>31</sup>). Im Oxim XII<sup>34</sup>) bringt die Oxyaminogruppe erst bei hohen Konzentrationen eine deutliche, eigene Wirkung in das Molekül XI mit; rein ist die Wirkung der :NOH-Gruppe in XLV zu erkennen. Besonders glücklich ergänzen sich :NOH- und -NO<sub>2</sub>-Gruppe im Oxim XVII<sup>36</sup>) des 5-Nitro-furfurols (XV)<sup>36</sup>) zu einem Molekül mit dem für Nitrofurane charakteristischen breiten Wirkungsspektrum. Ähnlich ausgezeichnet sind das Semicarbazon XVIII und das gleichwirksame Thiosemicarbazon, gegen welche das Guanidin-Derivat XIX, das Azin XX und das Azomethin mit *o*-Amino-phenol XXI abfallen.

Unabhängig von uns haben während des Krieges M. C. Dodd u. W. B. Stillman die antibakterielle Eigenschaft von 5-Nitro-furan-Verbindungen entdeckt<sup>37</sup>) und verfolgt. Als Ergebnis jener Untersuchungen ist inzwischen das Semicarbazon XVIII des 5-Nitro-furfurols als Antiseptikum für äußerliche Zwecke in den Handel gekommen.

Am 2.5-Dinitro-furan (VIII) gewinnt man bereits den Eindruck, als ob nur eine Nitrogruppe wirksam sei. Tatsächlich verbessert auch in anderen Fällen (XXIX, XXX) die naheliegende Einführung einer zweiten Nitrogruppe in einen Ring nicht die Wirkung. Dagegen erschließt die Vereinigung zweier Kerne mit je 1 Nitrogruppe eine ganze Reihe besonders breit wirksamer Verbindungen. Als Brücke zeichnet sich das Schwefelatom vor der Sulfongruppe und der Ketogruppe aus (vergl. XXV geg. XXVII und XXVIII). In der homologen Reihe XXII–XXVI stufen sich Krystallfarbe, Lösungsfarbe in konz. Schwefelsäure und alkoholischer Kalilauge genau so ab wie Reduzierbarkeit und Wirkungsspektrum. In den Sulfiden stellen die freien Elektronenpaare des Brückenschwefelatoms eine leitende Verbindung zwischen sämtlichen ungesättigten Molekülteilen her, ebenso wie die beiden freien Elektronen der Vinylengruppe in den Äthylenen XXXIX–XLIV. Mit der Keto- oder Sulfongruppe kann diese Konjugation nicht zustandekommen, was sich im Falle der Nitroverbindungen ungünstig, im Falle der Sulfonamide günstig auswirkt. Man braucht durchaus nicht anzunehmen, daß in den Dinitrosulfiden XXIV–XXVI beide Nitrogruppen reduziert werden bei der Teilungshemmung, wie aus dem breiten und ausgezeichneten Wirkungsspektrum von XXXII folgt. Beliebig darf die Benzolhälfte allerdings nicht verändert werden, wie XXXI zeigt. Von XXXII führt der Weg zum Sulfon XXXV, welches in sich die Wirksamkeit eines 5-Nitro-furan-Derivats mit der eines vollwertigen Sulfonamids vereinigt.

<sup>36</sup>) G. F. Wright u. H. Gilman, Journ. Amer. chem. Soc. 52, 2550 u. 4165 [1930].

<sup>37</sup>) Journ. Pharmacol. Exper. Therap. 82, 11 [1944, Sept.]; D. L. Cramer u. M. C. Dodd, Journ. Bacteriol. 51, 293 [1945].

Beide Wirkungen lassen sich an der Wachstumshemmung von *Streptobacterium plantarum* leicht nebeneinander zeigen<sup>1)</sup>: In synthetischer Nährlösung mit geringem Gehalt an *p*-Amino-benzoesäure tritt die Wirksamkeit der Sulfonamid-Hälfte hervor, welche bei diesem Milchsäurebakterium diejenige der 5-Nitro-furan-Hälfte um ein Vielfaches übertrifft; in Pepton-Nährlösung dagegen wird bekanntlich die Sulfonamid-Wirkung vollständig unterdrückt, so daß die gegen Pepton und *p*-Amino-benzoesäure unempfindliche Wirkung der Nitrogruppe hervortritt.

Tafel 3. Vergleich der vollständig wachstumshemmenden Konzentration in  $\gamma$ /ccm bei *Streptobacterium plantarum* 10 SIG.

Versuch in Saccharosehydrolysat-Pepton-Lösung + 2.7 mg % Manganchlorid und Versuch (eingeklammerte Werte) in synthetischem Nährmedium<sup>38)</sup>; Versuchsdauer 3 Tage.

Komponenten der Verbh.	$\cdot C_6H_4 \cdot NO_2$	$\cdot C_4H_2S \cdot NO_2$	$\cdot C_4H_2O \cdot NO_2$
$CH_3 \cdot CO \cdot HN \cdot C_6H_4 \cdot S \dots\dots$	>250 (>250)	>250 (>250)	64 (64)
$CH_3 \cdot CO \cdot HN \cdot C_6H_4 \cdot SO_2 \dots\dots$	>250 (>250)	130 (130)	64 (32)
$H_2N \cdot C_6H_4 \cdot S \dots\dots\dots$	>250 (>250)	>250 (>250)*	64 (64)
$H_2N \cdot C_6H_4 \cdot SO_2 \dots\dots\dots$	>250*) (8)	64 (4)	64 (2)

\*) Nach 2 Tagen mit 130  $\gamma$ /ccm Wachstumshemmung.

Ebenso wie die Teilungen von Bakterien sind auch die Teilungen von Pflanzen- und Tierzellen durch intensive Redox-Vorgänge ausgezeichnet. Bei Kressesamen, welche in Triphenyl-tetrazoliumchlorid-Lösung keimen, färben sich die Vegetationszonen der Wurzeln und die Keimblätter durch Formazan selektiv rot an, welches durch Hydrierung *in vivo* entsteht. Diese Beobachtung von F. Moewus<sup>2)</sup> hat sich zu einer Keimfähigkeitsprüfung von Samen ausbauen lassen<sup>39)</sup>. Es war zu erwarten, daß auch die Samenkeimung durch Nitroverbindungen zu hemmen sei.

Tafel 4. Keimungshemmungen durch Nitroverbindungen<sup>40)</sup>.

Je 25 Kressesamen (*Lepidium sativum*) auf Filtrierpapier in 9 cm  $\varnothing$ -Petri-Schalen regelmäßig verteilt, wurden mit 3 ccm der Substanzverdünnungen durchfeuchtet und 2 Tage bei 25° bebrütet; die ausgekeimten Würzelchen wurden ausgemessen und aus dem Durchschnitt die angegebenen prozentualen Hemmungen gegenüber Kontrollen berechnet.

Verbindungen	Konzentration in $\gamma$ /ccm	Hemmung in %
XXXVIII $O_2N \cdot CH_2 \cdot CH_3 \dots\dots\dots$	1000	0
XLII $O_2N \cdot CH : CH \cdot C_6H_4 \cdot NO_2 \dots\dots\dots$	100	10
XXIV $O_2N \cdot C_4H_2S \cdot S \cdot C_4H_2S \cdot NO_2 \dots\dots\dots$	100	13
XXXVII $O_2N \cdot CH : CH \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_3 \dots\dots\dots$	100	18
XVIII $O_2N \cdot C_4H_2O \cdot CH : N \cdot CO \cdot NH \cdot NH_2 \dots\dots\dots$	100	18
XXV $O_2N \cdot C_4H_2O \cdot S \cdot C_6H_4 \cdot NO_2 \dots\dots\dots$	100	53
XLI $O_2N \cdot CH : CH \cdot C_6H_5 \dots\dots\dots$	100	60
XXVI $O_2N \cdot C_4H_2O \cdot S \cdot C_4H_2O \cdot NO_2 \dots\dots\dots$	100 (10)	100 (26)
XVII $O_2N \cdot C_4H_2O \cdot CH : NOH \dots\dots\dots$	100 (10)	100 (37)

<sup>38)</sup> Zur Zusammensetzung vergl. <sup>1)</sup>, Fußn. 17 u. ebenda Anm. zu Abbild. 2.

<sup>39)</sup> G. Lakon, Ber. dtsh. bot. Ges. 57, 191 [1939]; 60, 299, 434 [1942].

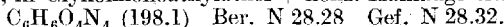
<sup>40)</sup> Die Versuche verdanken wir Hrn. Dr. F. Moewus und Frä. M. Seel.

Entsprechend der Reduzierbarkeit ordnen sich die homologen Dinitrodisulfide wieder regelmäßig in die Folge XXIV, XXV, XXVI ein. Man darf annehmen, daß in dem Samengewebe die am stärksten reduzierenden Zellen durch die Nitroverbindungen auswählend teilungsunfähig gemacht werden.

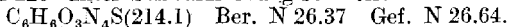
Ähnliche Verhältnisse dürften auch in tierischem Gewebe anzutreffen sein. Wie Herr Prof. H. Lettré in sehr entgegenkommender Weise festgestellt hat, wirkt 5,5'-Dinitro-difuryl-(2,2')-sulfid (XXVI) in Hühnerherz-Fibroblasten-Kulturen als Mitosegift.

#### Beschreibung der Versuche<sup>41)</sup>.

Umsetzungsprodukte von 5-Nitro-furfurol (XV)<sup>36)</sup>: Mit Semicarbazid (XVIII): 0.8 g (0.005 Mol) 5-Nitro-furfurol (XV) wurden in 5 ccm warmem Methanol mit der Lösung von 1.1 g Semicarbazid-hydrochlorid (0.01 Mol) und 1.4 g Natriumacetat (0.01 Mol) in 3 ccm Wasser versetzt. Der in Alkohol schwer lösliche Niederschlag lieferte aus etwa 30 ccm Glykolmonoäthyläther umkrystallisiert 0.5 g (50% d.Th.) zitronengelbe Blättchen vom Schmp. 232° unter Zersetzung nach Dunkelfärbung; Färbung in konz. Schwefelsäure gelb, in Glykolmonoäthyläther + konz. Kalilauge tiefrot.

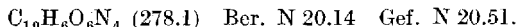


Mit Thiosemicarbazid: Der Ansatz wie bei XVIII ergab 0.5 g dunkelgelbes Krystallpulver, das bei 229° unter Schwarzfärbung schmolz.

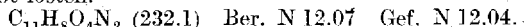


Mit Guanidin (XIX): 0.7 g XV (0.005 Mol) in 5 ccm Methanol blieben mit 0.7 g Guanidincarbonat (0.005 Mol) in 2.5 ccm 2 n HNO<sub>3</sub> 24 Stdn. im Eisschrank stehen. Dreimaliges schnelles Umlösen des erhaltenen Niederschlags aus etwa 10–15 ccm siedend heißem Wasser mit Aktivkohle-Zusatz lieferte 0.35 g kaum gelbstichige Nadelchen, welche sich beim anhaltenden Kochen in Wasser unter Rotfärbung zersetzten und bei 216° unter Verpuffen schmolzen.

Mit Hydrazin (XX): 0.7 g XV (0.005 Mol) in 5 ccm heißem Methanol wurden mit 0.35 g Hydrazinsulfat (0.0025 Mol) in 5 ccm heißer 2 n Natriumacetat-Lösung versetzt. Der Niederschlag lieferte aus etwa 20 ccm Glykolmonoäthyläther + 15 ccm Dioxan mit Aktivkohle-Zusatz umgelöst 0.35 g (50% d.Th.) stumpf-gelborangefarbenes Krystallpulver des schwerlöslichen Azins, das bei 239–240° unter Zersetzung nach Dunkelfärbung schmolz.



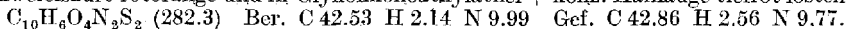
Mit *o*-Amino-phenol (XXI): 0.7 g XV (0.005 Mol) mit 0.5 g *o*-Amino-phenol vermischt erwärmten sich und erstarrten. Der zerkleinerte Schmelzkuchen ergab aus etwa 60 ccm Methanol umgelöst 0.7 g (47% d.Th.) orangefarbene Blättchen, welche bei 167 bis 169° unter Zersetzung schmolzen und sich in konz. Schwefelsäure orangefarben, in 2 n NaOH tief rubinrot lösten.



Mit *p*-Amino-phenol setzte sich 5-Nitro-furfurol wenig glatt um und sehr schlecht mit *m*-Amino-phenol.

Mit *p*-Phenetidin: Ein Ansatz wie bei XXI ergab 0.85 g (65% d.Th.) zitronengelbe, glänzende Nadeln, welche bei 132–135° zu einer orangefarbenen Flüssigkeit schmolzen und sich in konz. Schwefelsäure orangerot, in Glykolmonoäthyläther + konz. Kalilauge gelb lösten.

[4-Nitro-phenyl]-[5-nitro-thienyl-(2)]-sulfid (XXIII): Zur filtrierten, roten Lösung von 2.0 g Natrium-4-nitrophenyl-mercaptid (0.011 Mol) in 25 ccm heißem absol. Alkohol kamen 2.5 g 2-Jod-5-nitro-thiophen<sup>31)</sup> (0.01 Mol). Nach kurzem Aufkochen und 1-tägig. Stehenlassen des zunächst klaren Ansatzes wurden 2.5 ccm 2 n absol. Alkohol. Natriumäthylat-Lösung zugegeben. Den nach 2 Tagen abgenutzten Niederschlag schälte man in 200 ccm Wasser auf, welches mit Natronlauge auf pH 9 gebracht wurde. Das Rohprodukt wog 2.0 g (71% d.Th.). Zweimaliges Umkrystallisieren aus einem mit 2 n Essigsäure angesäuerten Alkohol-Tetrahydrofuran-Gemisch lieferte goldgelbe, geschmacklose Nadelhäufchen vom Schmp. 130–133°, welche sich in konz. Schwefelsäure rotorange und in Glykolmonoäthyläther + konz. Kalilauge tiefrot lösten.



<sup>41)</sup> Alle Schmelzpunkte im Berl-Block unkorrigiert.

[4-Nitro-phenyl]-[5-nitro-furyl-(2)]-sulfid (XXV): 4 g Natrium-4-nitro-phenyl-mercaptid (0.022 Mol) und 3.8 g 2-Brom-5-nitro-furan<sup>31</sup>) (0.02 Mol) in 50 ccm absol. Alkohol wurden wie vorstehend beschrieben behandelt. Der mit Wasser gewaschene Niederschlag kristallisierte aus etwa 60 ccm 96-proz. mit 2 n Essigsäure angesäuertem Alkohol unter Aktivkohle-Zusatz in blaßgelben, geschmacklosen Nadelchen vom Schmp. 117–119°, welche sich in konz. Schwefelsäure farblos und in Glykolmonoäthyläther + konz. Kalilauge tiefrot lösten; Ausb. 2.54 g (50% d.Th.).

$C_{16}H_6O_5N_2S$  (266.1) Ber. N 10.53 S 12.04 Gef. N 10.69 S 12.00.

[4-Nitro-phenyl]-[5-nitro-furyl-(2)]-sulfon (XXVII): Zur Lösung von 1.3 g Sulfid XXV (0.005 Mol) in 20 ccm Eisessig kamen unter Rühren und Kühlen mit Leitungswasser allmählich 1.6 g feingepulvertes Kaliumpermanganat (0.010 Mol), so daß die Reaktionstemperatur bei 25° blieb. Anschließend rührte man 1 Stde. weiter und kochte dann das Gemisch 20 Min. unter Rückfluß. Noch heiß wurde es hierauf in die Lösung von 0.6 g (0.003 Mol) Natriumdithionit in 150 ccm Eis + Wasser eingerührt. Den abgenutzten Niederschlag kochte man zuerst mit 5 ccm Methanol aus, um nichtoxydiertes Sulfid zu entfernen, und kristallisierte den Rückstand aus etwa 110 ccm Alkohol unter Aktivkohle-Zusatz um. Es schieden sich 0.4 g (26% d.Th.) farblose Nadelbüschel vom Schmp. 177–178.5° ab, welche sich in konz. Schwefelsäure farblos und in Glykolmonoäthyläther + konz. Kalilauge gelb lösten.

$C_{16}H_6O_7N_2S$  (298.1) Ber. C 40.26 H 2.03 N 9.40 Gef. C 40.53 H 2.31 N 9.21.

[4-Nitro-phenyl]-[5-nitro-thienyl-(2)]-sulfon: Zur Lösung von 1.4 g Sulfid XXIII (0.005 Mol) in 20 ccm Eisessig kamen unter Rühren teilweise 1.5 g feingepulvertes Kaliumpermanganat (0.0095 Mol); die Reaktionstemperatur stieg auf 75°, und anschließend kochte man das Gemisch 5 Minuten. Hierauf wurde es noch heiß in die Lösung von 0.6 g Natriumdithionit (0.003 Mol) in 150 ccm Eis + Wasser eingerührt. Der mit Wasser gewaschene Niederschlag lieferte mit 160 ccm kochendem Alkohol ausgezogen 0.5 g und der Rückstand nach Umlösen aus der Mutterlauge weitere 0.4 g (Ausb. 56% d.Th.). Die farblosen Nadelchen vom Schmp. 193–195° lösten sich in konz. Schwefelsäure farblos und in Glykolmonoäthyläther + konz. Kalilauge vorübergehend tiefgrün, dann farblos.

$C_{16}H_6O_6N_2S_2$  (314.2) Ber. C 38.19 H 1.93 N 8.92 Gef. C 38.42 H 2.14 N 9.09.

[5-Nitro-furyl-(2)]-[5-nitro-thienyl-(2)]-keton (XXVIII): Unter Rühren und Kühlen mit Eis-Kochsalz-Gemisch kamen bei einer Reaktionstemperatur unter -5° 10 ccm Salpetersäure (d 1.52) (0.25 Mol) allmählich zu 30 ccm Essigsäureanhydrid; hinzu tropfte anschließend ein Gemisch von 9 g 2-Furfuroyl-thiophen (0.05 Mol<sup>33</sup>) mit 5 ccm Essigsäureanhydrid. Nach 1 Stde. Stehenlassen bei -5° rührte man den Nitrieransatz in 200 ccm Eis + Wasser ein. Das abgesetzte dicke Öl wusch man mehrere Male mit Eiswasser aus, nahm es in 100 ccm Äther auf und versetzte die äther. Lösung mit 20 ccm Pyridin. Die anfänglich auf 30° gestiegene Temperatur der äther. Lösung fiel nach etwa 2 Stdn. wieder; nunmehr wurde der Äther bei Zimmertemperatur i. Vak. verjagt und die braune Pyridinlösung in 200 ccm Eis + Wasser und 25 ccm konz. Salzsäure eingerührt. Mehrmaliges, verlustreiches Umlösen der abgeschiedenen, dunklen, halbfesten Masse aus Methanol unter Aktivkohle-Zusatz lieferte schließlich beim langsamen Abkühlen der Methanollösung zuerst kaum gelbstichige Nadelchen und nach dem Erkalten braune Krystallkugeln. Das Krystallgemisch wog 0.65 g und schmolz um 130–138° (Gef. N 8.63%). Die braunen Kugeln stellten sehr wahrscheinlich das halbnitrierte 2-[5-Nitro-furfuroyl]-thiophen dar, während die Nadelchen bereits Dinitroprodukt waren.

Es wurden deshalb 0.4 g des Krystallgemischs, gelöst in 5 ccm Essigsäureanhydrid, wie oben beschrieben mit 5 ccm Essigsäureanhydrid und 5 ccm Salpetersäure (d 1.52) nachnitriert. Das nach dem Einrühren in 100 ccm Eis + Wasser vollständig ausgefallte Nitrierungsprodukt gab aus etwa 30 ccm Alkohol unter Aktivkohle-Zusatz umgelöst 0.16 g kaum gelbstichige Nadelchen vom Schmp. 159–162°, welche sich in konz. Schwefelsäure orangerot anfärbten und eine gelbe Lösung lieferten, während sich ihre Lösung in Glykolmonoäthyläther mit konz. Kalilauge tiefbraun färbte.

$C_9H_4O_6N_2S$  (268.1) Ber. N 10.45 Gef. N 10.09.

3.5.5'-Trinitro-difuryl-(2.2')-sulfid (XXIX): 10 ccm Salpetersäure (d 1.52) in einem Probierrohr hielt man in Kohlensäureschnee-Aceton-Mischung stetig bis eben über ihren Schmelzpunkt gekühlt und gab teilweise unter kräftigem Rühren 0.5 g feingepulvertes 5.5'-Dinitro-difuryl-(2.2')-sulfid (XXVI)<sup>4</sup>) zu. Nach 15 Min. Rühren wurde die nunmehr klare Lösung in 100 ccm Eis + Wasser eingerührt. Der Niederschlag lieferte aus etwa 10 ccm Alkohol umgelöst 0.1 g (17% d.Th.) farblose, glänzende Blättchen vom Schmp. 123–125°, welche sich am Licht schnell rot färbten. Die Verbindung gab in konz.

Schwefelsäure eine blaßgelbe, in konz. Kalilauge eine orangerote, in Pyridin eine blaßorange Lösung; die methanol. Lösung wurde mit konz. Kalilauge tiefrot, schnell verbläsend.

$C_8H_3O_8N_3S$  (301.1) Ber. C 31.88 H 1.00 N 13.95 Gef. C 32.47 H 1.14 N 14.29.

3,3',5,5'-Tetranitro-dithienyl-(2,2')-sulfid (XXX): 0.5 g feinstgepulvertes 5,5'-Dinitro-dithienyl-(2,2')-sulfid (XXIV)<sup>1)</sup> wurden teilweise unter kräftigem Rühren zu dem in Kohlendäureschnee-Aceton-Mischung gekühlten Gemisch von 2.5 ccm konz. Schwefelsäure und 2.5 ccm konz. Salpetersäure (d. l. 52) gegeben. Nach dem Eintragen wurde 10 Min. in Eis-Kochsalz-Mischung, dann 10 Min. in Eiswasser und hierauf 10 Min. in einem Wasserbad von +10° weitergerührt. Beim anschließenden Einrühren des Nitrieransatzes in 50 ccm Eis + Wasser schieden sich helle Flocken ab. Man kochte den abgesehenen Niederschlag zunächst mit 3 ccm Methanol aus und löste den schwerlöslichen Rückstand aus etwa 20 ccm Glykolmonoäthyläther um; es fielen 0.1 g (14% d.Th.) hellgelbe Kryställchen aus, welche nach Braunfärbung bei 196–198° schmolzen. Lösungsfarbe in konz. Schwefelsäure unverändert gelb, in konz. Kalilauge orange, in Pyridin rot; die methanol. Lösung wurde mit konz. Kalilauge tief rubinrot.

$C_8H_2O_8N_4S_3$  (378.2) Ber. N 14.81 Gef. N 14.85.

[4-Chlor-phenyl]-[5-nitro-furyl-(2)]-sulfid (XXXI): Eine Lösung von 1.55 g 4-Chlor-thiophenol (0.011 Mol) und 1.9 g 2-Brom-5-nitro-furan<sup>31)</sup> (0.01 Mol) in 20 ccm absol. Alkohol wurde mit 4.6 g (0.01 Mol) Natriumäthylat-Lösung (5 g Natrium + 100 g absol. Alkohol) versetzt. Die über Nacht abgeschiedenen Krystalle schlämmte man in 200 ccm schwach natronalkalischem Wasser vom  $p_H$  9 auf und löste sie aus etwa 20 ccm mit 2 n Essigsäure angesäuertem Methanol um. Ausb. 1.7 g (65% d.Th.) goldgelbe Nadeln vom Schmp. 63–65°; am Licht färbten sie sich schnell orangerot. Lösungsfarbe in konz. Schwefelsäure ziegelrot, in Glykolmonoäthyläther + 25-proz. Natronlauge orange.

$C_{10}H_6O_8NCIS$  (255.7) Ber. N 5.48 Gef. N 5.99.

[4-Acetamino-phenyl]-[5-nitro-furyl-(2)]-sulfid (XXXII): Zu der auf 5° in Eis + Wasser gekühlten Lösung von 5.4 g 4-Acetamino-thiophenol (0.02 Mol) in 10 ccm 2 n absol. alkohol. Natriumäthylat-Lösung tropfte unter Rühren die warm bereitete Lösung von 3.8 g 2-Brom-5-nitro-furan<sup>31)</sup> (0.02 Mol) in 12 ccm absol. Alkohol so, daß die Reaktionstemperatur nicht über 10° stieg.  $\frac{1}{4}$  Stde. nach beendiger Zugabe fügte man 2 ccm 2 n Natriumäthylat-Lösung zu, ließ 1 Stde. im Eisbad weiterrühren, nutschte dann ab und wusch den Niederschlag mit wenig eiskaltem absol. Alkohol. Umlösen aus etwa 50 ccm Methanol-Wasser-Gemisch (1 : 1) + 2 ccm 2 n Essigsäure lieferte 4.5 g schwefelgelbe Kryställchen vom Schmp. 130–131°. Eingießen der Reaktionslösung in 150 ccm Eiswasser und zweimaliges Umkrystallisieren des Niederschlags lieferte weitere 0.4 g (Gesamtausbeute 88% d.Th.). Leicht löslich in Alkohol, Eisessig, Essigester, Chloroform und heißem Benzol, schwer in Wasser sowie kaltem Benzol. Lösungsfarbe in konz. Schwefelsäure orangerot, in Glykolmonoäthyläther + konz. Kalilauge unverändert gelb, bald ausbläsend.

$C_{12}H_{10}O_4N_2S$  (278.2) Ber. C 51.77 H 3.62 N 10.07 Gef. C 52.18 H 4.13 N 9.96.

[4-Acetamino-phenyl]-[5-nitro-thienyl-(2)]-sulfid: Der wie vorstehend bei XXXII behandelte Ansatz mit 5 g 2-Jod-5-nitro-thiophen<sup>31)</sup> (0.02 Mol) in 25 ccm absol. Alkohol bei einer Reaktionstemp. von 25° lieferte nach Umlösen des Reaktionsprodukts aus etwa 400 ccm 80-vol.-proz. Methanol 4.4 g (75% d.Th.) zitronengelbe Nadeln vom Schmp. 174–176°. Lösungsfarbe in konz. Schwefelsäure orangerot, in Glykolmonoäthyläther + konz. Kalilauge orange.

$C_{12}H_{10}O_3N_2S_2$  (294.2) Ber. C 48.96 H 3.43 Gef. C 49.14 H 3.76.

[4-Amino-phenyl]-[5-nitro-furyl-(2)]-sulfid (XXXIII): Man ließ 4.9 g Acetamino-phenyl-nitro-furyl-sulfid XXXII (0.0175 Mol) in 50 ccm 4 n methanol. Salzsäure gelöst 30 Min. unter Rückfluß kochen, verjagte die methanol. Salzsäure i. Vak., nahm das hinterbliebene gelbe Hydrochlorid in 100 ccm Wasser auf und fällte das freie Amin durch Natriumcarbonat-Lösung bei  $p_H$  9. Der mit Wasser gewaschene Niederschlag lieferte aus etwa 200 ccm 60-vol.-proz. Methanol 2.75 g (76% d.Th.) orangefarbene Nadelchen, welche nach Sintern bei 121–123° schmolzen. Lösungsfarbe in konz. Schwefelsäure tiefgelb, in Glykolmonoäthyläther gelb, mit konz. Kalilauge unverändert, bald ausbläsend.

$C_{10}H_8O_8N_2S$  (236.1) Ber. C 50.83 H 3.41 N 11.87 Gef. C 50.91 H 3.56 N 11.80.

0.6 g XXXIII (0.0025 Mol), gelöst in 5 ccm Eisessig + 5 ccm Propionsäure, wurden nach Zufügen von 1 ccm konz. Salzsäure unter Eiskühlung mit 2.5 ccm  $n$   $NaNO_2$  diazotiert und in 150 ccm 2 n  $Na_2CO_3$  mit 0.75 g  $\beta$ -naphthol-disulfosäurem-(3.6) Natrium ge-

kuppelt. Das tiefrote Kupplungsprodukt ließ sich aus wäßr. Dioxan umkrystallisieren; es war mäßig löslich in 2 *n* Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und ziemlich löslich mit ziegelroter Farbe in 0.01 *n* NaOH. Lösungsfarbe in konz. Schwefelsäure tiefpurpur.

[4-Amino-phenyl]-[5-nitro-thienyl-(2)]-sulfid: 3 g (0.01 Mol) Acetaminophenyl-nitrothienyl-sulfid vom Schmp. 174–176° (s. oben) wurden in 100 ccm 4 *n* methanol. Salzsäure einige Stunden unter Rückfluß gekocht. Das wie vorstehend bei XXXIII aufgearbeitete Reaktionsprodukt lieferte aus etwa 60 ccm 80-vol.-proz. Methanol 2.1 g (91% d.Th.) dunkel-weinrote, verfilzte Nadeln vom Schmp. 98–100°. Lösungsfarbe in konz. Schwefelsäure orange, in Glykolmonoäthyläther orange, mit konz. Kalilauge unverändert.

C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> (252.2) Ber. C 47.58 H 3.20 N 11.11 Gef. C 47.85 H 3.26 N 11.26.

[4-Succinylamino-phenyl]-[5-nitro-furyl-(2)]-sulfid (XXXVI): Das feingepulverte Gemisch von 0.6 g XXXIII (0.0025 Mol) und 0.5 g (0.00275 Mol) Bernstein säure-anhydrid erwärmte man 15 Min. in einem Ölbad von 155°. Die rote Schmelze erstarrte nach dem Herausnehmen sehr schnell; der zerkleinerte Schmelzkuchen löste sich in 50 ccm 2 *n* Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> + 200 ccm heißem Wasser. Die erkaltete Lösung versetzte man mit 55 ccm 2 *n* H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und krystallisierte die Fällung aus etwa 25 ccm 30-vol.-proz. Methanol um; 0.45 g (50% d.Th.) vom Schmp. 164–167° wuchsen als hellschwefelgelber Nadelkuchen durch die ganze Lösung. Die Nadelchen schmeckten stark bitter, aber nicht reizend. Lösungsfarbe in konz. Schwefelsäure orangerot, in Glykolmonoäthyläther + 25-proz. Natronlauge unverändert gelb.

C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>N<sub>2</sub>S (336.2) Ber. C 49.97 H 3.59 Gef. C 49.92 H 3.89.

[4-Acetamino-phenyl]-[5-nitro-furyl-(2)]-sulfon (XXXIV): 2.8 g Sulfid XXXII (0.01 Mol), warm in 40 ccm Eisessig gelöst, wurden unter Röhren allmählich mit 2.6 g Kaliumpermanganat (0.016 Mol) versetzt. Hierauf ließ man das Gemisch 5 Min. kochen und gab es unter Röhren noch heiß in die Lösung von 1.2 g Natriumdithionit (0.006 Mol) in 200 ccm Eis + Wasser; der mit Wasser gewaschene Niederschlag enthielt noch Ausgangsmaterial beigemischt. Aus etwa 130 ccm Methanol unter Aktivkohle-Zusatz und dann aus etwa 80 ccm Alkohol umgelöst fielen 0.6 g (20% d.Th.) farblose Kryställchen an, welche sich ab 195° gelblich färbten und bei 201–204° unter Zersetzung schmolzen. Lösungsfarbe in konz. Schwefelsäure gelb, in Glykolmonoäthyläther + konz. Kalilauge gelb, sofort verblassend.

C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>N<sub>2</sub>S (310.2) Ber. C 46.44 H 3.25 N 9.04 Gef. C 47.16 H 3.63 N 9.17.

[4-Acetamino-phenyl]-[5-nitro-thienyl-(2)]-sulfon: 2.9 g (0.01 Mol) Acetaminophenyl-nitrothienyl-sulfid vom Schmp. 174–176° (s. oben) wurden wie vorstehend bei XXXIV mit Kaliumpermanganat behandelt. Der mit Wasser gewaschene Niederschlag ergab zweimal aus etwa 70 ccm Alkohol umgelöst 2.1 g (64% d.Th.) farblose Nadelchen vom Schmp. 190–191.5°. Lösungsfarbe in konz. Schwefelsäure farblos, in Glykolmonoäthyläther + konz. Kalilauge orange.

C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> (326.3) Ber. C 44.15 H 3.09 N 8.59 Gef. C 44.41 H 3.31 N 8.74.

[4-Amino-phenyl]-[5-nitro-furyl-(2)]-sulfon (XXXV): 0.5 g Acetaminosulfon XXXIV (0.0016 Mol) wurden in 60 ccm 4 *n* methanol. Salzsäure 40 Min. gekocht. Das Reaktionsprodukt lieferte, wie bei Sulfid XXXIII aufgearbeitet, nach der Umkrystallisation des wassergewaschenen Niederschlages aus etwa 10 ccm 70-vol.-proz. Methanol, 0.3 g (66% d.Th.) gelborange Nadelchen vom Schmp. 145–147°. Lösungsfarbe in konz. Schwefelsäure unverändert gelbstichig, in Glykolmonoäthyläther + konz. Kalilauge orange, rasch ausblassend.

C<sub>10</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>S (268.1) Ber. C 44.76 H 3.01 N 10.45 Gef. C 44.98 H 3.04 N 10.64.

[4-Amino-phenyl]-[5-nitro-thienyl-(2)]-sulfon: Der Ansatz von 1.0 g (0.003 Mol) Acetaminophenyl-nitrothienyl-sulfon vom Schmp. 190–191.5° (s. oben) wurde wie vorstehend bei XXXV beschrieben einige Stunden gekocht und aufgearbeitet. Der mit Wasser gewaschene Niederschlag gab aus etwa 60 ccm 70-vol.-proz. Methanol umgelöst 0.8 g (94% d.Th.) tiefgelbe Kryställchen vom Schmp. 158–159°. Lösungsfarbe in konz. Schwefelsäure farblos, in Glykolmonoäthyläther orange, schnell verblassend.

C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> (284.2) Ber. C 42.23 H 2.84 N 9.86 Gef. C 42.39 H 3.22 N 9.85.

Toxizitätsvergleiche einiger Nitroverbindungen an der Ratte.

*p,p'*-Dinitro-diphenyl-sulfid (XXII) besitzt nach E. Fourneau, J. Tréfouël, F. Nitti, D. Bovet u. Frau J. Tréfouël<sup>42)</sup>, bei der Streptokokkeninfektion der Maus mit

<sup>42)</sup> Compt. rend. Acad. Sciences 204, 1763 [1937]; Bull. Acad. Méd. 118, 210 [1937].



25–100 mg peroral pro Maus eine sehr günstige Heilwirkung und wird in Dosen bis zu 200 mg/20 g Maus peroral vertragen. Bei unseren orientierenden Toxizitätsversuchen an Ratten wurden von 2 Ratten mit 200 g Gewicht je 50 mg XXII, in 1 ccm Laurinsäureäthylester fein suspendiert und unter die Bauchhaut injiziert, an 2 aufeinanderfolgenden Tagen ausgezeichnet vertragen. Von 5.5'-Dinitro-dithienyl-(2.2')-sulfid (XXIV) wurden dieselben Mengen ebenso verabreicht beide Male gleichfalls gut vertragen; die Substanz verfärbte sich in Berührung mit Gewebe tiefrot. Dagegen wirkte 5.5'-Dinitro-difuryl-(2.2')sulfid (XXVI) bereits mehrere Stunden nach der ersten Injektion von 50 mg bei beiden Ratten tödlich, wobei sich XXVI in Berührung mit Gewebe ebenfalls rot färbte. Als XXVI in 2.5-proz. Agarsuspension einer Ratte mit je 2 ccm = 50 mg täglich durch Schlundsonde an 3 aufeinanderfolgenden Tagen verabreicht wurde, ging das Rattengewicht von 160 g auf 110 g am fünften Tage zurück. Urin und Stuhl waren am 2. und 3. Tage rot gefärbt. 25 mg XXXVI = 1 ccm Agarsuspension ebenso einer anderen Ratte gegeben brachten keine Gewichtsabnahme zustande.

G. Domagk<sup>43)</sup> hat die gute Verträglichkeit von *p*-Nitro-benzoesäureestern mit mindestens 2 g/kg bis zu 10 g/kg bei subkutaner Injektion in Mäusen und Ratten betont. Von 5-Nitro-furan-carbonsäure-(2)-äthylester wirkten 0.1 g in 2 ccm Laurinsäureäthylester gelöst und einer 180 g-Ratte subkutan injiziert nach 2 Tagen tödlich, während 0.05 g/200 g Ratte vertragen wurden. Von 5-Nitro-thiophen-carbonsäure-(2)-äthylester machten sich 0.1 g in 2 ccm Laurinsäureäthylester nach Injektion in eine 190 g-Ratte nicht bemerkbar.

In Versuchen, welche uns zu besonderem Dank verpflichten, mit künstlich streptokokkeninfizierten Mäusen hat Herr Prof. F. Keeser im Jahre 1944 nach hohen, bereits toxischen peroralen und subkutanen Gaben in ölgiger Lösung von 5.5'-Dinitro-difuryl-(2.2')-sulfid und 5.5'-Dinitro-dithienyl-(2.2')-sulfid einen beschleunigten Ablauf der tödlichen Streptokokkensepsis festgestellt.

Frau E. Scheppa und Frau M. Rolf sowie Hrn. K. Schröder danken wir für die cifrige Unterstützung bei den Versuchen.

## 15. Georg Scheuing und Wilhelm Konz: Darstellung von *l*-Weinsäure.

[Aus den wissenschaftlichen Laboratorien von C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim a. Rh.]

(Eingegangen am 14. Dezember 1946.)

*d*-Xylose wird mit Sauerstoff zu *d*-Threonsäure abgebaut und diese mittels Salpetersäure zu *l*-Weinsäure oxydiert.

Die bekannten Verfahren zur Gewinnung von *l*-Weinsäure durch Spaltung von Traubensäure sind wenig ergiebig. Es gibt außerdem einige Verfahren, die von Kohlenhydraten ausgehend zu *l*-Weinsäure führen. So erhält E. Andersen<sup>1)</sup> durch Oxydation von *d*-Threonsäurelacton mit Salpetersäure bei 50–60° *l*-Weinsäure in guter Ausbeute. J. K. Dalc und W. F. Rice<sup>2)</sup> oxydieren *d*-Gulonsäurelacton mit Salpetersäure und isolieren *l*-Weinsäure in etwa 13-proz. Ausbeute. Das *d*-Gulonsäurelacton wird aus Xylose nach dem Verfahren von La Forge<sup>3)</sup> gewonnen. R. C. Hockett<sup>4)</sup> baut *d*-Threose oxydativ zu *l*-Weinsäure ab; E. Pascu, S. M. Trister und J. W. Green<sup>5)</sup> benutzen *d*-Threonsäure als Ausgangsmaterial. Der Nachteil dieser Verfahren ist die mühsame Darstellung

<sup>43)</sup> Chemotherapie bakterieller Infektionen, 3. Aufl., S. 174 (Leipzig 1944).

<sup>1)</sup> Amer. chem. Journ. **42**, 425 [1909].

<sup>2)</sup> Journ. Amer. chem. Soc. **55**, 4984 [1933].

<sup>3)</sup> Journ. biol. Chem. **36**, 347 [1918].

<sup>4)</sup> Journ. Amer. chem. Soc. **57**, 2260 [1935].

<sup>5)</sup> Journ. Amer. chem. Soc. **61**, 2444 [1939].