

aus (VIII) beschriebene Anarbeitung gab 1.15 g Rohsyrup (XI + XII). Aus wenig abs. Alkohol bei 0° (Impfen) wurden 520 mg Krystalle erhalten, die nach Lösen in abs. Alkohol, Eindampfen und Aufnehmen in Aceton reines *d*-Idosan (XI) vom Smp. 125—127° (Mischprobe) lieferten.

4, 6-Benzal- β -methyl-*d*-Idosid-(1,5)-2,3-dimethyläther (XXV).

a) Aus (XXIV).

0,4 g 4,6-Benzal- β -methyl-*d*-Idosid-(1,5)-3-(?)-methyläther (XXIV) vom Smp. 104—105° wurden mit 10 cm³ CH₃J und 1,5 g Ag₂O (über P₂O₅ getrocknet) 5 Stunden unter Rückfluss gekocht. Nach Abdampfen des CH₃J wurde mehrmals mit Äther ausgekocht. Nach starkem Einengen kristallisierten 365 mg Prismen vom Smp. 122—125°. Sublimation im Hochvakuum (120° Radtemperatur) und Umkristallisieren aus Äther-Petroläther gab einen scharfen Smp. von 124—125°. $n_D^{20} = -52,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,689$ in Chloroform).

17,233 mg Substanz 1,014 cm³: $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = -0,89^\circ \pm 0,02^\circ$

3,657 mg Subst. gaben 8,281 mg CO₂ und 2,349 mg H₂O

2,550 mg Subst. verbr. 7,341 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck)

C₁₆H₂₂O₆ (310,33) Ber. C 61,93 H 7,14 -OCH₃ 30,00%

Gef. .. 61,80 .. 7,18 .. 29,77%

b) Aus (XXI).

0,3 g 4,6-Benzal- β -methyl-*d*-Idosid-(1,5) (XXI) vom Smp. 163—164° wurden mit 10 cm³ CH₃J und 1 g Ag₂O genau gleich behandelt und gaben 305 mg Nadeln vom Smp. 122—124°. Mischprobe mit obigem Analysenpräparat ebenso.

c) Aus (XXVI).

20 mg 4,6-Benzal- β -methyl-*d*-Idosid-(1,5)-2(?) -methyläther (XXVI) vom Smp. 168—170° wurden mit 2 cm³ CH₃J und 0,1 g Ag₂O 3 Stunden gekocht und gaben 18 mg Nadeln vom Smp. 124—125° (Mischprobe ebenso).

Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich (Leitung W. Manser) ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

2. Sur les dérivés mercuriés de l'acide p-aminobenzoïque

par Emile Cherbullez et Marcel Mori.

(22 XI 44)

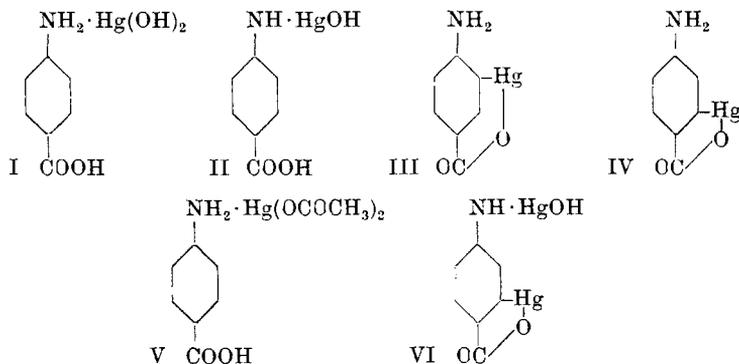
Depuis les travaux de Woods¹⁾, on sait que certains produits chimiothérapeutiques agissent comme antivitamines; les sulfamidés en particulier interviennent avant tout en déplaçant l'acide p-aminobenzoïque (la vitamine H') dans des processus biochimiques encore inconnus, pour la réalisation desquels ce corps est indispensable à certains microorganismes. Il nous a paru intéressant d'examiner dans cet ordre d'idées quelques dérivés de l'acide p-aminobenzoïque résultant de l'introduction d'un groupement nettement toxique: on pouvait se demander si l'on obtiendrait ainsi une «vitamine empoisonnée»

¹⁾ Voir par ex. D. D. Woods et P. Filles, J. Soc. Chem. Ind. 59, 133 (1940).

en quelque sorte, ou si, au contraire, la fixation d'un groupement nouveau sur le noyau aromatique supprimerait l'analogie biochimique avec le corps primitif de manière à faire disparaître tout antagonisme entre le dérivé substitué et l'acide p-aminobenzoïque lui-même. C'est bien cette dernière possibilité qui entre en jeu avec le mercure, que nous avons étudié jusqu'à présent comme groupement toxique.

I. *La mercuration de l'acide p-aminobenzoïque.*

Par action de l'acétate de mercure sur des esters p-aminobenzoïques, *Schoeller, Schrauth et Liese*¹⁾ ont obtenu, par l'intermédiaire de corps mercuriés à l'azote, un mélange de dérivés mono- et di-substitués dans le noyau; du dérivé mono-mercurié qu'ils en ont retiré, ils ont obtenu, par saponification, un acide mono-hydroxymercuri-amino-benzoïque sous forme de son sel interne. Plus tard, *Maschmann*²⁾, étudiant le mécanisme de mercuration de dérivés aromatiques à fonction amino et oxy, a examiné l'action de l'acétate de mercure en solution aqueuse à froid sur une série de substances, entre autres sur le p-amino-benzoate de sodium; il a constaté qu'il se forme très rapidement deux corps intermédiaires, I, puis II, dans lesquels le mercure est fixé plus ou moins solidement à l'azote; conservé en suspension dans la liqueur où il s'est formé, ce dernier corps se transforme très lentement en un corps identique à celui décrit par *Schoeller* et ses collaborateurs comme sel interne de l'acide 3-hydroxymercuri-4-amino-benzoïque III; cette transformation s'opère en quelques heures à l'ébullition.



Nos observations concordent à peu près avec celles des auteurs précités; pour la position du mercure, par contre, qui ne semble pas avoir été établie directement, nous pensons devoir admettre plutôt la position 2 (formule IV), en ortho par rapport à la fonction carboxyle, au lieu de 3 envisagée sans autre par *Schoeller, Schrauth et Liese*. Par ailleurs, la composition du premier produit de réaction varie selon les conditions de travail.

¹⁾ B. 52, 1785 (1919).

²⁾ A. 450, 85 et 98 (1926).

En effet, lorsqu'on verse une solution de 1 mol. d'acétate de mercure dans de l'eau froide, dans une solution alcoolique d'une mol. d'acide p-aminobenzoïque, on obtient immédiatement un précipité représentant à peu de chose près la somme des poids des deux corps mis en réaction. Ce fait, ainsi que sa teneur en mercure (trouvé 42,1%¹) et sa démercuration facile, lui assignent la formule d'un produit d'addition, qu'on peut représenter par la formule V²) et non I. Porté quelques heures à l'ébullition dans la liqueur-mère, le produit s'enrichit progressivement en mercure et fournit finalement un mélange du sel interne IV avec un peu de dérivé di-mercurié VI (1 Hg au carbone, 1 à l'azote).

Pour opérer en solution aqueuse, nous avons ajouté à la solution de l'acide aromatique dans de l'eau bouillante, la solution aqueuse froide du sel mercurique (chauffée sans addition d'acide acétique, cette dernière se troublerait par hydrolyse). Le précipité obtenu immédiatement dans ces conditions est constitué par un mélange du dérivé II avec une petite quantité de son produit de transposition intramoléculaire, le sel interne IV; il contient en outre du dérivé disubstitué au carbone et au mercure, VI. Par ébullition de la suspension, pendant quelques heures, on aboutit à un produit pareil à celui que fournit l'opération en milieu aquo-alcoolique.

Un dérivé disubstitué au carbone, tel que *Schoeller* et ses collaborateurs l'avaient obtenu à partir des esters de l'acide p-aminobenzoïque, ne se forme pas (ou seulement en quantités très faibles) dans les conditions dans lesquelles nous nous sommes placés.

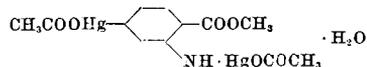
Les deux dérivés IV et VI sont faciles à séparer au moyen de soude caustique diluée qui, dans des conditions appropriées, ne dissout que l'acide mono-mercurié IV.

Dans les deux modes opératoires, le produit brut retient un peu d'acide acétique (jusqu'à 3%; dosé par distillation avec de l'acide phosphorique), probablement par salfication de la fonction hydroxymercure libre de VI. Pour se débarrasser de ce reste acétique qui gêne le contrôle analytique, on ajoute au mélange des solutions, par petites portions, une molécule de carbonate de sodium aqueux, tout en poursuivant l'ébullition. On obtient alors des produits bruts exempts d'acide acétique.

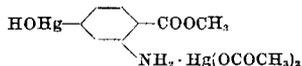
Pour le contrôle de la mercuration, nous avons substitué à la réaction qualitative de précipitation plus ou moins facile d'oxyde (par NaOH) ou de sulfure de mercure (par SN_{a_2}), la réaction avec le thiosulfate. Généralement très peu solubles dans l'eau, tous les produits obtenus se dissolvent facilement dans du thiosulfate aqueux en excès. Les dérivés mercuriés au carbone se transforment en thiosulfates organomercuriques; le mercure fixé à l'azote est éliminé comme thiosulfate complexe minéral. Ces réactions s'accompagnent de la mise en liberté d'alcali en quantités variables; leur titrage à la phénolphaléine fournit, dès lors, rapidement une donnée quantitative, que nous exprimons en cm^3 0,1-n par gr. Voici les possibilités qui nous intéressent le plus (les corps sont désignés par les numéros de leurs formules):

¹) Tous les dosages de mercure ont été faits selon *Whitmore* (*Organic Compounds of Mercury*, New York, 1921) par calcination avec du carbonate, le mercure élémentaire étant recueilli par amalgamation avec de l'or.

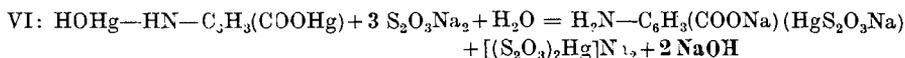
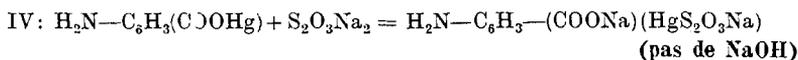
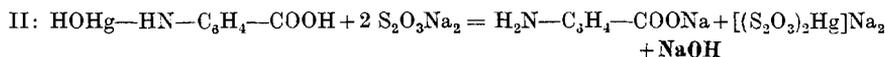
²) D'une manière analogue, *Schoeller* et *Hueter* (*B.* 47, 1930 (1914)) ont obtenu en solution alcoolique à partir de l'antranilate de méthyle, un corps



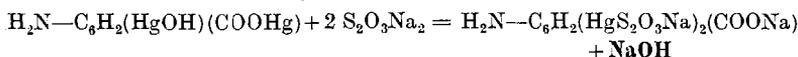
qu'on pourrait peut-être mieux formuler comme combinaison ayant additionné une molécule d'acétate de mercure au groupe amino:



En effet, l'eau ne s'y laisse pas éliminer sans décomposition.



Un dérivé dimercurié au noyau (isomère de VI) fournirait:



II. Dérivés mercuriques de l'acide p-aminobenzoïque.

1) Acide 2-hydroxy-4-amino-benzoïque et dérivés.

Sel interne (IV).

3 gr. d'acide p-aminobenzoïque dissous dans 100 cm³ d'eau chaude sont additionnés de 7 gr. (1 mol.) d'acétate de mercure dans 30 cm³ d'eau froide. Il se forme immédiatement un abondant précipité blanc. On porte à l'ébullition et ajoute par portions (énergique dégagement de CO₂) 21 cm³ CO₂Na₂ 2-n (calculé 22 cm³). Après 5 heures d'ébullition, on laisse refroidir. Le précipité filtré et lavé à l'eau pèse 6,5 gr.; il titre 61—62% de mercure, soit environ 90% du mercure mis en œuvre; la libération d'alcali par le thiosulfate est tombée d'environ 22 cm³ au début à 8 cm³ à peu près. Ce fait, ainsi que la teneur en mercure (calculé pour le sel interne monomercurié 59,5% Hg) montrent que le produit contient un peu de dérivé polymercurié. Le produit brut, suspendu dans peu d'eau en présence de 3,4 cm³ NaOH 2-n (2 mol.) par gr. de substance, se dissout en majeure partie lorsqu'on écrase bien les grumeaux. Dans le filtrat, on reprécipite par addition de la quantité équivalente d'acide chlorhydrique, le sel interne pratiquement pur avec un rendement de 80% du produit brut (72% par rapport aux produits de départ).

C ₇ H ₅ O ₂ NHg	Calculé Hg 59,5; N 4,2%; lib. alc. (thios.) 0 cm ³ 0,1 n/gr.
	Trouvé ¹⁾ „ 59,3; „ 4,2%; „ „ „ 0 „ „

Position du mercure. Par action de l'iode, les dérivés organo-mercuriques sont transformés en dérivés iodés dans lesquels l'halogène occupe la place du mercure. Un acide 4-aminobenzoïque monomercurié au carbone fournira donc soit l'acide 2-iodo-4-aminobenzoïque fondant à 180°, soit l'isomère avec l'iode en 3 et fondant à 200—201°²⁾. Suspendu dans un peu d'eau et traité à l'ébullition avec de l'iode en solution alcoolique à l'ébullition en léger excès, notre sel interne se dissout pendant que le mercure est précipité comme oxyiodure. On retire du filtrat par concentration un acide iodé, dont le point de fusion se fixe à 181° après deux recristallisations dans de l'alcool; il s'agit donc de l'acide 2-iodo-4-aminobenzoïque, ce qui justifie la formule proposée pour le sel interne, obtenu par mercuration de l'acide. Comme nous n'avons pas répété l'opération de mercuration des esters selon *Schoeller*, etc., il se pourrait que l'on obtint là l'autre isomère, tel que ces auteurs l'ont formulé. A priori, la position du mercure en ortho par rapport à la fonction carboxyle n'a rien de surprenant, cette fonction dirigeant en ortho et para lorsqu'il s'agit de mercuration. En l'absence de point de fusion du sel interne, seule l'étude de dérivés cristallisés identifiables trancherait ce point.

Les propriétés du sel interne ont déjà été décrites. Ce corps amorphe, très peu soluble dans l'eau (env. 1 : 10000), se dissout facilement dans les alcalis caustiques. De sa solution dans un équivalent de soude caustique, nous avons retiré par concentration le

¹⁾ Azote dosé par kjeldahlisation avec de l'acide sulfurique concentré sans addition de catalyseur, le mercure du produit suffisant déjà.

²⁾ Dérivé 3-iodo: *Wheeler et Liddle*, Am. **42**, 456 (1909). Dérivé 2-iodo: *Willgerodt et Gartner*, B. **41**, 2824 (1908).

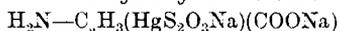
Sel sodique cristallisé en prismes: $C_7H_6O_3NHgNa \cdot 2 H_2O$

Calculé Hg 48,8 N 3,4 Na 5,6% lib. d'alc. (thios.) 24,3 cm³ 0,1 n/gr.

Trouvé „ 49,1 „ 3,5 „ 5,6% „ „ „ 20,5 „ „

Le sel interne est également soluble dans les solutions des sels alcalins dont l'anion forme des combinaisons peu ou pas dissociées avec le mercure bivalent. C'est ainsi qu'il se dissout déjà très perceptiblement (1 : 300) dans du chlorure de sodium dilué, par ex. dans une solution physiologique; nous n'avons toutefois pu retirer de ces solutions le sel sodique de l'acide 2-chloro-mercuri-4-amino-benzoïque pur; ce sel ne se dépose que souillé de chlorure de sodium. On obtient par contre facilement, par ex., le dérivé correspondant de l'acide thiosulfurique, en dissolvant le sel interne dans une solution aqueuse concentrée d'une mol.-gr. de thiosulfate de sodium et en y faisant cristalliser par addition d'alcool et d'éther le

Thiosulfate sodique de l'acide 2-hydroxymercuri-4-aminobenzoïque



incolore neutre, très facilement soluble dans l'eau, et dont les solutions sont assez stables à la température ordinaire. A chaud, il y a formation rapide de sulfure de mercure.

$C_7H_5O_3NS_2HgNa$ Calculé Hg 40,5 N 2,9 S 13,0 Na 9,4%

Trouvé „ 40,0 „ 2,9 „ 14,0 „ 9,6%

Si le sel interne se dissout plus facilement en présence de chlorures en milieu neutre, il est par contre encore moins soluble dans l'acide chlorhydrique dilué que dans l'eau, car il est transformé alors en

Acide 2-chloromercuri-4-amino-benzoïque: on obtient ce corps en traitant le sel interne pendant quelques heures avec de l'acide chlorhydrique dilué. Le produit devient d'un blanc plus éclatant et prend une apparence microcristalline. Solubilité dans l'eau, env. 1 : 60000.

$C_7H_6O_2NClHg$ Calculé Hg 53,9 Cl 9,6%

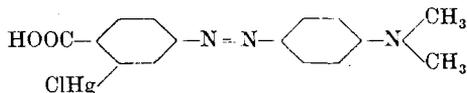
Trouvé „ 54,5 „ 9,2%

Ces chiffres dénotent une transformation qui n'est pas encore intégrale (env. 4% de sel interne), le dérivé chlorhydrique, très peu soluble, mettant l'intérieur des grains à l'abri de la transformation.

Le traitement par de l'acide sulfurique dilué à basse température fournit d'une manière analogue un sel résultant de la fixation d'une molécule de l'acide minéral par le sel interne, produit qui est de nouveau peu soluble dans l'eau.

A chaud, les acides minéraux dilués provoquent rapidement un début de minéralisation du mercure.

Colorant azoïque dérivé de l'acide hydroxymercuri-aminobenzoïque. 4-Carboxy-3-chloromercuri-4'-diméthylamino-azobenzène.



Pour pouvoir disposer d'un dérivé ayant, in vivo, l'action bactériologique éventuelle du sel interne, tout en étant plus facilement soluble dans l'eau, nous avons transformé ce dernier en colorant azoïque par diazotation et copulation. En traitant le sel interne par l'acide nitreux en solution aqueuse dans des conditions variées, nous avons toujours constaté une démercuration; la diazotation en milieu acétique par contre conduit au but.

1 gr. de sel interne est suspendu dans 25 cm³ d'acide acétique glacial et 25 cm³ d'éther. A la suspension refroidie à - 5°, on ajoute 0,35 gr. de nitrite d'amyle (1 mol.) et 1,5 cm³ d'acide chlorhydrique conc. (2 mol.). Lorsqu'on agite et écrase le sel interne, il se dissout entièrement. La solution brunâtre, toujours refroidie, est additionnée de diméthylaniline en léger excès. La solution se colore peu à peu en rouge violacé. Après 24 heures de repos, au cours desquelles on a laissé la liqueur revenir à la température ambiante, on filtre éventuellement d'une très faible cristallisation et évapore au bain-

marie. Le résidu pâteux, trituré avec un peu d'eau, se transforme en une poudre violacée, qu'on filtre et lave à l'eau. Ce produit, que nous considérons comme le chlorhydrate du colorant azoïque énoncé plus haut, contient 38,4% de mercure au lieu de 37,9% que demanderait le chlorhydrate; nous pensons que l'évaporation de la liqueur-mère s'est accompagnée d'une légère perte de la molécule chlorhydrique fixée sur la fonction diméthylamino.

Relativement soluble dans l'eau, ce colorant se dissout facilement en milieu alcalin (en jaune) et très facilement dans les acides dilués (en rouge). La solubilité dans l'acide chlorhydrique dilué exclut du reste la présence de sel interne non-transformé puisque ce dernier donnerait alors le dérivé chloromercurique très peu soluble. Le virage du jaune au rouge se fait au p_H 6 environ. En milieu neutre ou faiblement acide, le colorant est extrait par l'éther, probablement sous forme du dérivé chloromercurique libre, formulé dans le titre (trouvé Hg 40,0%; calculé 39,7%). Le stannite de sodium le réduit d'abord, avant de provoquer la libération du mercure.

Le produit cristallisé, formé quelquefois en très petites quantités lors de la copulation, contient presque 44% de mercure; il n'a pas été examiné de plus près.

2) *Sel interne de l'acide 2-hydroxymercuri-4-hydroxymercuriamino-benzoïque* (VI).

Nous attribuons au résidu du produit brut de mercuration restant après le traitement à la soude caustique diluée, la formule donnée dans le titre. Voici les chiffres analytiques qu'il fournit (éventuellement après répétition du traitement destiné à en extraire le sel interne de l'acide aminobenzoïque monomercurié:

$C_7H_5O_3NHg_2$	Calculé Hg	72,6	N	2,5	lib. d'alc. (thios.)	36,3	cm^3	0,1	n	par gr.
	Trouvé	72,0	2,6	„	„	37,0	„	0,1	n	„

La libération de deux molécules d'alcali par réaction avec le thiosulfate exclut la formule d'un dérivé disubstitué au carbone; ce corps, isomérique avec le corps VI, ne fournirait que la moitié de l'alcali trouvé.

Au point de vue physique, cette mercuri-amine du sel interne se distingue de ce dernier surtout par sa moindre solubilité: c'est une poudre incolore, soluble dans l'eau à raison d'environ 1 : 50000, très difficilement soluble dans les alcalis dilués, qui la décomposent à chaud, ainsi que les acides minéraux.

III. *Propriétés bactériologiques et pharmacologiques.*

Nous résumons très sommairement les données qu'on trouvera in extenso ailleurs¹⁾. Les dérivés monomercuriés ont une action bactéricide et inhibitrice assez marquée in vitro sur toute une série de microorganismes pathogènes (staphylocoque doré, streptocoque, B. typhi, etc.); pour le dérivé chloromercurique, la concentration limite d'inhibition est de l'ordre de 1 : 1 000 000 après 10 minutes de contact pour le staphylocoque doré par exemple; l'activité est moindre pour le sel interne et le colorant azoïque; elle est nulle finalement, dans la limite des concentrations réalisables (1 : 50 000) pour le corps dimercurié au carbone et à l'azote.

Cette action n'est accompagnée d'aucun antagonisme avec l'acide p-aminobenzoïque: à la concentration active limite vis-à-vis du staphylocoque, de 1 : 1 000 000, soit à une molarité de $2,7 \times 10^{-6}$, l'effet du dérivé chloromercurique n'est pas affecté par l'acide p-aminoben-

¹⁾ Voir aussi *Marcel Mori*, Recherches sur la mercuration de l'acide p-aminobenzoïque et de quelques sulfanilamides, thèse de doctorat n° 1071, de la Faculté des Sciences de Genève (sous presse).

zoïque même à une molarité de 10^{-4} , c'est-à-dire à une concentration moléculaire presque quarante fois plus élevée.

In vivo, l'effet curatif du sel interne est bon vis-à-vis du staphylocoque par application directe sur les plaies, mais nul par injection ou ingestion après infection intrapéritonéale (cobaye).

La toxicité des produits actifs in vitro est remarquablement faible (par exemple sel interne: souris, dose tolérée 140 mgr. Hg par kg per os et 10 mgr. Hg par kg en injection intramusculaire). Un produit sans action bactéricide spécifique, tel que le dérivé dimereurié, par contre, se montre beaucoup plus toxique pour le rongeur.

Nous remercions le *Laboratoire Médical S.A.*, à Genève, pour les facilités qu'il a bien voulu nous accorder pour l'étude biologique de nos produits, faite sous la direction de Mlle *Dalphin*.

Laboratoire de Chimie pharmaceutique de
l'Université de Genève.

3. Die Temperaturabhängigkeit der Sauerstoffdiffusion in verdünnten wässrigen Salzlösungen

von H. Wanner.

(22. XI. 44.)

Im Verlaufe von Untersuchungen über die begrenzenden Faktoren der Atmung von Pflanzenwurzeln stellte es sich heraus, dass unter bestimmten Umständen die Geschwindigkeit der Sauerstoffdiffusion durch die Flüssigkeitsschicht, welche die Wurzeln umgibt, als „limiting factor“ bedeutsam werden kann. Für die Berechnung der Sauerstoffkonzentration in verschiedenem Abstände von der Wurzeloberfläche, aus Messungen in einer bestimmten Entfernung, war die Kenntnis des Diffusionskoeffizienten von Sauerstoff bei verschiedenen Temperaturen in der betreffenden Lösung notwendig. In der Literatur existieren darüber nur wenige Angaben. Der Diffusionskoeffizient D in Wasser bei 16°C (Sauerstoffkonzentration „sehr niedrig“) wurde von *Carlson*¹⁾ zu $1,607 \text{ cm}^2/\text{Tag}$ ($= 1,86 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{sec}$) gefunden, bei 18° zu $1,98 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{sec}$ (nach *Moelwyn-Hughes*²⁾, Untersucher nicht zitiert). Wird der Temperaturkoeffizient β des Diffusionskoeffizienten durch

$$D_x = D_a(1 + \beta \Delta t) \quad (1)$$

(D_x, D_a = Diffusionskoeffizient bei der Temperatur x bzw. a , $\Delta t = x - a$)

¹⁾ *Carlson, T.*, Am. Chem. Soc. **33**, 1027 (1911).

²⁾ *Moelwyn-Hughes, E. A.*, in Hdb. d. Enzym. **1**, 222 (1940).