

Es war daher von Interesse, die INH-Resistenz von Tbc-Kulturen in diesem Sinne zu charakterisieren.

Als strukturverwandt mit INH kann das mit INH isomere Picolinsäurehydrazid und das mit letzterem isostere Thiazol-2-carbonsäurehydrazid bezeichnet werden. Beide Verbindungen sind tuberkulostatisch wirksam, wenn auch schwächer als INH¹⁾. Die Versuche zeigten, dass das Wachstum einer gegen eine dieser drei Verbindungen resistent gewordenen Tbc-Kultur auch von den beiden anderen nicht mehr gehemmt wird (Tab. 4).

Weiterhin zeigte es sich, dass Kulturen eines *Vallée*-Stamms, die gegenüber Thiophen-2-carbonsäure-hydrazid bzw. gegenüber o-Oxybenzal-INH resistent geworden sind, auch gegenüber INH keine Empfindlichkeit mehr aufweisen.

Zusammenfassung.

Es wurden Versuche unternommen, um die Auswirkung der Zersetzung von INH in einer Nährlösung auf das nach 10 Tagen einsetzende Wachstum von Tbc-Kulturen abzuklären. Weiterhin zeigte sich, dass Cu-Ionen die Resistenzbildung von Tbc-Kulturen gegenüber INH verhindern. Die INH-Resistenz bedingt auch eine Resistenz gegenüber INH-ähnlichen Verbindungen.

Universität Basel,
Hygienische Anstalt und Anstalt für Anorganische Chemie.

237. Reaktionen mit ¹⁵N.

XV. Zur Bildung von Phenyl-naphtyl-carbazol-carbonsäure aus 2,3-Oxynaphtoesäure und Phenylhydrazin

von Klaus Clusius und Max Barsh.

(29. IX. 54.)

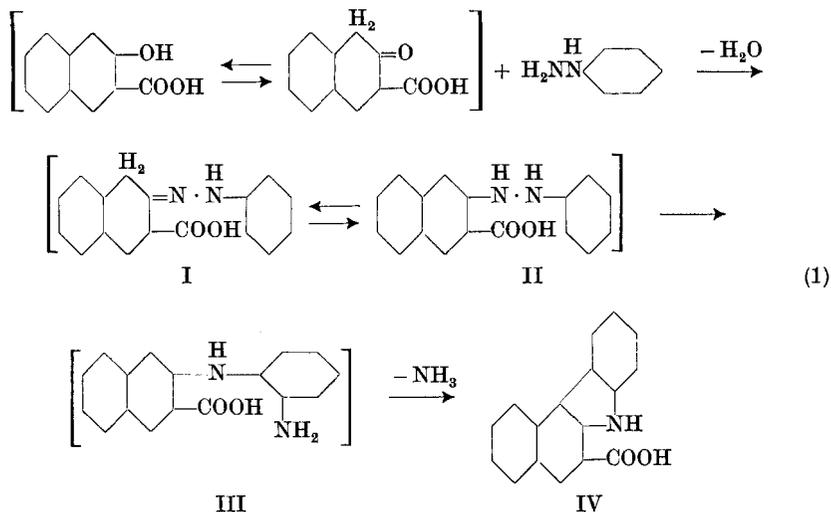
Verschiedene unter Austritt von Ammoniak verlaufende Ringschlüsse, bei denen ein Stickstoff enthaltender heterocyclischer Ring neu entsteht, lassen sich formal auf das intermediäre Auftreten von ω, ω' -Diaminen zurückführen. Falls dabei die eine Aminogruppe an einer aliphatischen Kette haftet, die andere Aminogruppe aber bereits unmittelbar an ein cyclisches System gebunden ist, wird nur die letztere zum Aufbau des heterocyclischen Ringes \uparrow herangezogen, die aliphatisch gebundene Aminogruppe dagegen quantitativ als Ammoniak abgestossen. Diese Regel bestätigt sich bei der Synthese des

¹⁾ H. Erlenmeyer, S. Fallab, B. Prijs & W. Roth, Helv. 37, 636 (1954).

α -Methylindols¹⁾, des 2-Aminobenzthiazols¹⁾ und der Harnsäure²⁾. Sie veranschaulicht die ungemein feste Bindung des Stickstoffs an ein cyclisches System.

Wir befassen uns nun mit der Frage, welches von zwei Stickstoffatomen in den heterocyclischen Ring eintritt, wenn jedes von ihnen bereits an einem aromatischen System sitzt. Dazu wird man zweckmässig zwei qualitativ voneinander verschiedene Aromaten heranziehen. Unter allen Umständen muss man vermeiden, dass ein symmetrisch gebautes ω, ω' -Diamin als Zwischenkörper auftreten kann, da dann lediglich eine statistische Verteilung der beiden N-Atome auf die Endprodukte zustande kommt.

Wir wählten die Bildung von Phenyl-naphtyl-carbazol-carbonsäure (IV) aus 2,3-Oxynaphtoesäure und Phenylhydrazin, die schon beim einfachen Erhitzen der gemischten Reagenzien unter Ammoniakabspaltung verläuft³⁾:

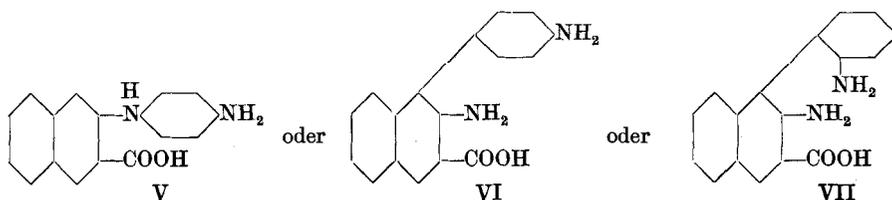


Ob dabei wirklich über ein Hydrazone I eine Hydrazoverbindung II entsteht, die eine o-Semidinumlagerung zu III erfährt, ist ungewiss. Sicherlich ist die voranstehend gegebene Formulierung nicht die einzig wahrscheinliche. Falls nämlich überhaupt ein Hydrazokörper II gebildet wird, bestehen für ihn noch andere Möglichkeiten der Umlagerung, die man in Analogie zum Verhalten der Hydrazobenzole hinschreiben kann:

¹⁾ K. Clusius & H. R. Weisser, *Helv.* **35**, 400 (1952).

²⁾ K. Clusius & M. Vecchi, *Helv.* **36**, 1324 (1953).

³⁾ M. Schöpff, *B.* **29**, 265 (1896); H. Th. Bucherer & F. Seyde, *J.* pr. **77**, 403 (1908); s. a. H. Wieland, *Die Hydrazine*, Verlag Enke 1913, S. 58.



Das Auftreten des Körpers V entspricht der p-Semidin-Umlagerung des Hydrazobenzols, das des o-Aminonaphthyl-p-aminophenyl-derivates VI der Entstehung des Diphenylins und VII schliesslich dem o-Diaminobiphenyl. Dass zahlreiche Nebenreaktionen ablaufen, die aber alle nicht zu leicht isolierbaren Endprodukten führen, geht schon daraus hervor, dass nach unseren Versuchen das Carbazolderivat IV nur in einer Ausbeute von 13 bis 14% der Theorie entsteht.

Wir haben gefunden, dass in die Carbazolcarbonsäure schwerer Stickstoff eingebaut wird, wenn man die Kondensation mit markiertem Phenylhydrazin $H_2^{15}NNHC_6H_5$ durchführt.

Experimentelles.

2,3-Oxynaphtoesäure wurde uns von der CIBA AG. in Basel freundlichst zur Verfügung gestellt, wofür wir auch hier bestens danken. Wir reinigten sie durch Lösen in verdünnter Sodalösung, unter Zusatz von etwas Aktivkohle, Filtrieren und Fällen mit Essigsäure. Der erhaltene Niederschlag wurde aus verdünnter Essigsäure heiss umkristallisiert, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Rein hellgelbe Kriställchen, Smp. 216,5–217°; nach Strohbach¹⁾ 214°; nach Lesser u. Mitarb.²⁾ 222–223°; nach Meyer-Jacobsen³⁾ 216°.

Markiertes Phenylhydrazin $H_2^{15}NNHC_6H_5$ wurde wie früher beschrieben dargestellt⁴⁾; es enthielt in der Aminogruppe 2,57 Atom% ^{15}N und wurde nach der Vakuumdestillation eingeschmolzen aufbewahrt.

Die Reaktion wurde in einer Wasserstoffatmosphäre in einer Apparatur ausgeführt, die ähnlich der bei der Crackingung des Diphenylhydrazins beschriebenen aufgebaut war⁵⁾. Das Phenylhydrazin (0,385 g; 3,56 Millimol) wurde zu der im Reaktionskölbchen befindlichen Naphtoesäure (0,644 g; 3,42 Millimol) mit einer Mikropipette zugegeben, das Kölbchen zugeschmolzen, der Inhalt mit flüssigem Stickstoff eingefroren und die Luft weggepumpt. Darauf wurde die Apparatur mit Wasserstoff, der durch eine Falle mit flüssigem Wasserstoff gereinigt war, bis auf Atmosphärendruck gefüllt. Die Mischung schmolz beim Erhitzen zwischen 130 und 140° zu einer homogenen, bernsteinfarbenen Flüssigkeit zusammen. Dann trat Gasentwicklung ein, bis die Masse bei 150° Kristalle abzuschneiden und wieder fest zu werden begann. Schliesslich wurde während des Abkühlens langsam evakuiert, um alle flüchtigen Reaktionsprodukte in die Vorlagen überzutreiben.

Der entstehende Ammoniak wurde mit flüssiger Luft, der Stickstoff mit flüssigem Wasserstoff ausgefroren. Während der Stickstoff nach dem Abpumpen des Wasserstoffs sofort rein war, enthielt die NH_3 -Falle noch Wasser, Spuren von Anilin, Phenylhydrazin u. dergl. Ihr Inhalt wurde daher noch kalt mit verdünnter Salzsäure aufgenommen, das

¹⁾ E. Strohbach, B. 34, 4143 (1901).

²⁾ R. Lesser, E. Kranepuhl & G. Gad, B. 58, 2115 (1925).

³⁾ Meyer-Jacobsen, Mehrkernige Benzolderivate (1903), Bd. II, 2. Teil, S. 433.

⁴⁾ K. Clusius & M. Hoch, Helv. 33, 2122 (1950).

⁵⁾ K. Clusius & M. Vecchi, Helv. 36, 933 (1953).

Phenylhydrazin mit Benzaldehyd als Benzal-phenylhydrazon entfernt, das Filtrat auf dem Wasserbad zur Trockene gebracht und der Ammoniak aus dem Rückstand durch „kalte Destillation“ sauber herausgeholt. Anilin fand sich stets nur in so geringen Spuren, dass sie zu einer Isotopenanalyse nicht reichten. Das im Kölbchen befindliche bräunliche Reaktionsprodukt wurde staubfein gepulvert und mehrfach mit heissem Alkohol ausgezogen. Es blieb dann die rohe Phenyl-naphtyl-carbazol-carbonsäure als gelbes Pulver in einer gut reproduzierbaren Ausbeute von 0,12 g, d. h. 13 bis 14% zurück. Die Substanz löste sich leicht in verdünnter Kalilauge und wurde aus ihr durch verdünnte Essigsäure nahezu vollständig wieder gefällt. Die umgefällte Säure wurde schliesslich aus Eisessig kristallisiert; Ausbeute: 0,075 bis 0,095 g. Ihre alkalische Lösung gab mit *Nessler's* Reagens weder eine Fällung noch Färbung. Bei 325° sinterte die Säure zusammen, verfärbte sich dann rasch und wurde schwarz. Dieselbe Temperatur wurde als Smp. von *Schöpf* angegeben, aber ein eigentlicher Smp. ist weder auf dem Smp.-Block noch in der Kapillare festzustellen. Die Elementaranalyse ergab 77,54% C (ber. 78,25); 4,19% H (4,24); 5,52% N (5,36) (nach *Dumas*) in naher Übereinstimmung mit den Angaben von *Schöpf*. Die Substanz konnte gut kjeldahlisiert werden, wobei 5,29% N gefunden wurden. Die ¹⁵N-Analysen wurden wieder nach der bandenspektroskopischen Mikromethode ausgeführt.

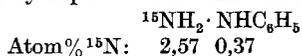
Der braungebe alkoholische Auszug des Rohproduktes färbte sich an der Luft rasch dunkel und trocknete auf dem Wasserbad zu einem schwarzen, stickstoffhaltigen Lack ein. Beim Versuch 6 wurde dieser mit etwas Phenol verschmolzen, mit Jodwasserstoffsäure reduziert und kjeldahlisiert, um eine Isotopenanalyse des Stickstoffs durchzuführen. Beim Versuch 5 sollte das Reaktionsprodukt ohne vorhergehende Behandlung mit Alkohol in Kalilauge gelöst und durch Fällen mit Eisessig aufgearbeitet werden. Dabei lassen sich aber keine definierten Körper erhalten, so dass dieser Weg nicht gangbar ist.

Ergebnisse.

Es wurden 6 Versuche durchgeführt, von denen 1 und 4 mit unmarkierten Verbindungen zu Kontrollzwecken dienten. Die Isotopenanalysen der übrigen Versuche sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Tabelle 1.

¹⁵N-Gehalte (in Atom% des Gesamt-N) der Reaktionsprodukte bei der Umsetzung von 2,3-Oxynaphtoesäure mit markiertem Phenylhydrazin



Versuch	Stickstoff	Ammoniak	Phenyl-naphtyl-carbazol-carbonsäure	Teer-Rückstand
2	—	2,52	0,62	—
3	—	2,45	0,64	—
5	2,17	—	—	—
6	2,14	2,43	0,62	1,56

Auf die Abspaltung von Stickstoffgas wurden wir erst im Laufe der Versuche aufmerksam. *Schöpf* hatte sie nicht beobachtet, und die thermische Zersetzung des Phenylhydrazins war nach unseren Erfahrungen erst bei 240°, also 90° oberhalb unserer höchsten Arbeitstemperatur zu erwarten. Auch handelt es sich bestimmt nicht um eine einfache Crackung des Phenylhydrazins, da dann der Gehalt des

Stickstoffs $(2,57 + 0,37)/2 = 1,47\%$ ^{15}N betragen müsste, während er sich nach Tab. 1 auf 2,14 bzw. 2,17% beläuft. Der elementare Stickstoff entsteht also zu 82% aus der NH_2 -Gruppe des Phenylhydrazins durch nicht näher bekannte Umsetzungen, die mengenmässig etwa 7% des gesamten Stickstoffs erfassen.

Ammoniak wird in einem Umfang von 10 bis 12% des nach der Reaktionsgleichung (1) möglichen Betrages in der Ausfrierfalle gefunden. Die wirklich entstehende Ammoniakmenge ist jedoch grösser, da ein Teil von ihm als Ammoniumsalz der Carbazolcarbonsäure zurückbleibt, denn man findet in der zum Umfällen dieser Säure benutzten Kalilauge stets Ammoniak, wie durch *Nessler's* Reagens leicht nachzuweisen ist. Der in der Ausfrierfalle abgefangene Ammoniak erreicht nicht ganz den ^{15}N -Gehalt der Aminogruppe des Phenylhydrazins, was schon darauf hindeutet, dass schwerer Stickstoff teilweise in den heterocyclischen Ring eingebaut wird.

Tatsächlich enthält die entstandene Carbazolcarbonsäure nach 3 gut übereinstimmenden Versuchen im Mittel 0,62₅% ^{15}N , so dass der schwere Stickstoff der Aminogruppe des Phenylhydrazins sich mit $(0,62_5 - 0,37)/(2,57 - 0,37) \cdot 100 \approx 12\%$ am Aufbau des Endprodukts beteiligt. Hier wird also im Gegensatz zu den eingangs erwähnten Beispielen ein gemischter Mechanismus eingeschlagen, indem beide N-Atome in den heterocyclischen Ring eingebaut werden können. Es ist jedoch auffällig, dass dafür die Aminogruppe des Phenylhydrazins offensichtlich eine untergeordnete Rolle spielt, da sie nur zu 12% zur Synthese herangezogen wird. Damit scheiden für den hauptsächlichlichen Anteil der Bildung der Säure IV die Zwischenkörper III, V und wohl auch VI sehr wahrscheinlich aus. Dagegen könnte das o-Diamin VII recht gut den Sachverhalt erklären, wenn man annimmt, dass eine Aminogruppe am Benzolkern fester als am Naphtalinsystem haftet. Falls man dem entgegenhält, dass die unmittelbare Bildung eines derartigen o-Diamins an sich unwahrscheinlich ist, da sie bei einfacher gebauten Hydrazokörpern nicht beobachtet wird, so lässt sich gerade aus dieser Tatsache auf eine grosse Reaktionsfähigkeit eines solchen Zwischenkörpers schliessen.

Wir sind nicht auf den mutmasslichen Einfluss der Carboxylgruppe eingegangen, aber es scheint verständlich, dass sie unter den Reaktionsbedingungen verhältnismässig leicht abgespalten wird. In diesem Zusammenhang muss man im Auge behalten, dass der Ansatz in der Hauptsache, d. h. zu etwa 80%, letzten Endes teerige Produkte liefert. Dementsprechend kommt die isotope Zusammensetzung dieses Rückstands mit 1,56% ^{15}N dem Durchschnittswert des Ausgangsmaterials mit 1,47% ^{15}N sehr nahe.

Der *Stiftung für wissenschaftliche Forschung an der Universität Zürich* sind wir für die Unterstützung dieser Untersuchung zu vielem Dank verpflichtet.

Zusammenfassung.

Bei der Bildung von Phenyl-naphtyl-carbazol-carbonsäure aus 2,3-Oxynaphtoesäure und markiertem Phenylhydrazin $^{15}\text{NH}_2 \cdot \text{NHC}_6\text{H}_5$ läuft ein gemischter Reaktionsmechanismus ab, bei dem der Carbazolring zu 12% mit dem markierten Stickstoff der Aminogruppe und zu 88% mit unmarkiertem Stickstoff aufgebaut wird.

Physikalisch-Chemisches Institut der Universität Zürich.

238. Zur Kenntnis der Sesquiterpene und Azulene.

113. Mitteilung¹⁾.

**Azulenaldehyde und Azulenketone:
Die Struktur des Lactaroviols²⁾**

von E. Heilbronner und R. W. Schmid.

(2. X. 54.)

Lactaroviolin ($\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}$) ist eine bakteriostatisch wirksame Verbindung³⁾ welche erstmals von *Willstaedt* in reiner Form aus dem echten Reizker (*Lactarius deliciosus L.*) isoliert worden ist⁴⁾. Da der erwähnte Pilz daneben einen blauen Farbstoff $\text{C}_{15}\text{H}_{16}$ ⁵⁾ enthält, der zur Gruppe der Azulene gehört und als Lactarazulen bezeichnet wird, war es naheliegend, auch für das Lactaroviolin eine Azulenstruktur anzunehmen⁶⁾. Der direkte Beweis für diese Annahme wurde von *Karrer, Ruckstuhl & Zbinden* erbracht⁷⁾.

Weitere Arbeiten⁸⁾ führten schliesslich dazu, dem Lactaroviolin eine der folgenden drei Strukturformeln zuzuordnen⁹⁾:

¹⁾ 112. Mitteilung: Chem. & Ind. 1954, 1202.

²⁾ Vgl. vorläufige Mitteilungen: E. Heilbronner, Chim. 8, 97 (1954). Pl. A. Plattner, E. Heilbronner, R. W. Schmid, R. Sandrin & A. Fürst, Chem. & Ind. 1954, 1202.

³⁾ H. Willstaedt & B. Zetterberg, Svensk. Kem. Tidskr. 58, 306 (1946).

⁴⁾ H. Willstaedt, B. 68, 333 (1935). Atti X. Congr. internat. Chim. 3, 390 (1938). Es sei hier darauf hingewiesen, dass *Bachwald* bereits 1886 das Lactaroviolin einer spektroskopischen Untersuchung unterzogen hatte: *Bachwald*, Programm des Gymnasiums zu Plauen, 1886, 18 (zitiert nach H. Willstaedt).

⁵⁾ F. Šorm, V. Benešova & V. Herout, Chem. listy 47, 1856 (1953); Coll. Czechoslov. Chem. Commun. 19, 357 (1954). Wir danken Herrn Prof. F. Šorm dafür, dass er uns Einblick in diese Arbeit, vor ihrer Publikation, gegeben hat.

⁶⁾ Dieser Schluss wurde bereits von *Willstaedt* gezogen, der dem Lactarazulen die Bruttoformel $\text{C}_{15}\text{H}_{18}$ zugeschrieben hatte.

⁷⁾ P. Karrer, H. Ruckstuhl & E. Zbinden, Helv. 28, 1177 (1945).

⁸⁾ Pl. A. Plattner & E. Heilbronner, Exper. 1, 233 (1945). H. Willstaedt, Svensk. Kem. Tidskr. 58, 23, 81 (1946). Pl. A. Plattner, A. Fürst & R. Sandrin, unveröffentlichte Arbeiten, vgl. dazu: R. Sandrin, Dissertation ETH, Zürich 1950.

⁹⁾ Pl. A. Plattner & E. Heilbronner, Exper. 1, 233 (1945).