

## Wissenschaftlicher Teil.

424. Th. Sabalitschka:

### Synthetische Studien über die Beziehung zwischen chemischer Konstitution und antimikrobischer Wirkung XI<sup>1)</sup>.

Mit H. Tietz: Zwei- und dreifach hydroxylierte oder oxalkylierte Benzoesäuren und deren Ester.

Eingegangen am 17. April 1931.

In vorausgehenden Mitteilungen ist die antimikrobische Wirkung von Estern karbozyklischer Säuren studiert. Dabei zeigten insbesondere die höheren Ester der im Kern in *p*-Stellung zur Karboxylgruppe durch Hydroxyl oder Oxalkyl substituierten Benzoesäure eine beachtenswerte, in der Antisepsis und Desinfektion verwertbare antimikrobische Wirkung. Im Anschluß an jene Beobachtungen wurden nun auch die Ester, vor allem die höheren Ester der zwei- und dreifach hydroxylierten oder oxalkylierten Benzoesäuren auf ihre antimikrobische Wirkung hin untersucht. So war auch die Möglichkeit geboten, an komplizierteren Verbindungen die Gültigkeit der in den früheren Versuchen mit nur einmal substituierten Estern gefundenen Beziehungen zwischen Konstitution und antimikrobischer Wirkung nachzuprüfen. Zur Ausdehnung der Versuche auf diese Substanzen regte nicht zuletzt die Tatsache an, daß diese Substanzen oder ihnen nahestehende Verbindungen häufig im Pflanzenreich anzutreffen sind, besonders in den ätherischen Ölen. Da deren antimikrobische Wirkung längst bekannt, neuerdings übrigens durch Mann<sup>2)</sup> und F. E. Marsh und W. K. Maus<sup>3)</sup> eingehender geprüft und bestätigt ist, sieht man die ätherischen Öle ja auch als Schutzmittel der Pflanzen gegen Befall durch Mikroben an. K. P. Link, H. R. Angell und J. C. Walker<sup>4)</sup> schreiben auch der Protokatechusäure eine solche Schutzwirkung zu. Sie beobachteten nämlich, daß Zwiebeln mit gefärbten Knollenschalen im Gegensatz zu den Zwiebeln mit farblosen Knollenschalen nicht von dem Pilz *Colletotrichum circinans* befallen werden; bei Nachprüfung dieser Beobachtung stellten sie für die wässerigen Extrakte der braunen Zwiebeln eine toxische Wirkung auf den Pilz fest und konnten als wirksames Prinzip die Protokatechusäure isolieren.

So weit bisher Ester von Di- und Triphenolkarbonsäuren und Äther derselben bekannt sind, handelt es sich fast ausschließlich um

<sup>1)</sup> Mitt. X.: Arch. Pharmaz. u. Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges. 1931, 228.

<sup>2)</sup> Süddtsch. Apoth.-Ztg. 67, 250 (1927).

<sup>3)</sup> Journ. Amer. pharmac. Assoc. 19, 344 (1930); Chem. Ztrbl. 1930, II, 1714.

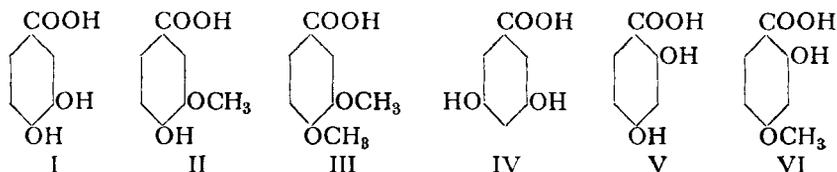
<sup>4)</sup> Journ. biol. Chemistry 81, 369 (1929); Chem. Ztrbl. 1929, II, 313.

Methylester, während hier gerade die höheren Ester angewandt werden sollten. Auch die Methylester, ebenso die Säuren waren mit Ausnahme der Brenzkatechin-*o*-Karbonsäure und der Gallussäure für diese Zwecke besonders herzustellen, da sie im Handel nicht erhältlich sind.

Die Protokatechusäure bereiteten wir durch Schmelzen von Vanillin mit Kaliumhydroxyd. Nach F. Tiemann und W. Haarmann<sup>5)</sup> soll dabei ausschließlich Protokatechusäure entstehen und die Aldehydgruppe nur durch sehr schwache und vorsichtige Oxydation ohne Abspaltung des Methyls in die Carboxylgruppe übergeführt werden können. Im Gegensatz zu diesen Angaben und in Übereinstimmung mit einer vor kurzem von G. Lock<sup>6)</sup> mitgeteilten Beobachtung erhielten wir neben Protokatechusäure (I) auch Vanillinsäure (II); da wir die letztere an sich zur Untersuchung heranziehen wollten, war dies angenehm. Es ist anzunehmen, daß die Dehydrierung der Aldehydgruppe durch das Alkali rascher erfolgt, als die Spaltung der Methoxylgruppe. Die Methyl- und Propylester der Protokatechusäure, die Methyl-, Äthyl-, Propyl-, Isopropyl- und Butylester der Vanillinsäure stellten wir durch Verestern der Säuren mit dem Alkohol mit Hilfe von HCl-Gas her; beim Benzylester der Vanillinsäure erwies sich die Umsetzung von Alkalinanillat mit Benzylchlorid zweckmäßiger. Die Methylester sind bereits von K. U. Matsumoto<sup>7)</sup>, der Äthylester der Vanillinsäure ist bereits von F. Tiemann und B. Mendelsohn<sup>8)</sup> auf ähnliche Weise erhalten.

Die Methyl- und Propylester der Vanillinsäure führten wir durch Methylierung mit Hilfe von Methyljodid bei Gegenwart von Alkali in die entsprechenden Ester der Veratrumsäure (III) über, von welchen der Methylester von K. U. Matsumoto<sup>9)</sup> bereits durch direkte Veresterung der Veratrumsäure mit Methylalkohol und aus Vanillinsäure und Jodmethyl erhalten wurde. Wir stellten umgekehrt durch Verseifung der Ester die Veratrumsäure selbst her.

Die 3,5-Dioxybenzoesäure (I),  $\alpha$ -Resorzylsäure (IV) erhielten wir durch Schmelzen der nach Hohenemser<sup>10)</sup> bereiteten 3,5-Disulfonsäure mit Atzkali, die Veresterung mit Methylalkohol geschah durch HCl-Gas.



<sup>5)</sup> Ber. Dtsch. Chem. Ges. 7, 617 (1874).

<sup>6)</sup> Ber. Dtsch. Chem. Ges. 62, 1187, (1929).

<sup>7)</sup> Ber. Dtsch. Chem. Ges. 11, 128, 129 (1878).

<sup>8)</sup> Ber. Dtsch. Chem. Ges. 10, 59 (1877).

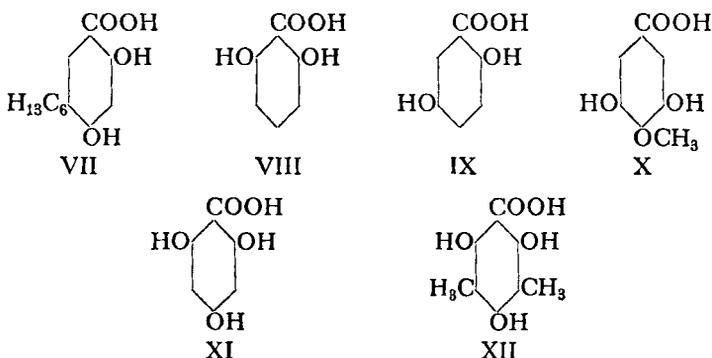
<sup>9)</sup> Ber. Dtsch. Chem. Ges. 11, 127 (1878).

<sup>10)</sup> Ber. Dtsch. Chem. Ges. 35, 2305 (1902).

Die 2,4-Dioxybenzoesäure (I),  $\beta$ -Resorzylsäure (V) wurde nach A. Bistrzycki und St. v. Kostanecki<sup>11)</sup> durch Erwärmen von Resorzin-Kaliumkarbonat-Lösung, der Äthyl- und Propylester der Säure durch Verestern mit Schwefelsäure gewonnen. So leicht, wie die  $\beta$ -Resorzylsäure durch Anlagerung von CO<sub>2</sub> an Resorzin entsteht, ebenso leicht geht sie unter Abspaltung von CO<sub>2</sub> wieder in Resorzin über, so schon beim Kochen mit Wasser. Der leichte Zerfall der Säure machte sich bei der Veresterung störend bemerkbar, wir konnten dabei neben dem Ester stets Resorzin erhalten. Bei den verschiedenen Versuchen, den Benzylester herzustellen, isolierten wir aus den Reaktionsprodukten überhaupt nur mehr Resorzin. Die Methylierung der  $\beta$ -Resorzylsäure mit Dimethylsulfat führte zur 2-Oxy-4-methoxybenzoesäure (I) (VI), die wir mit HCl-Gas zum Propylester veresterten. Aus 4-Hexylresorzin (1,3) bereiteten wir durch Behandeln mit Ammoniumkarbonat unter Druck gemäß F. Hoffmann-La Roche<sup>12)</sup> die 5-Hexyl-2,4-dioxybenzoesäure (I) (VII), deren Kaliumsalz mit Methyljodid zum Methyl ester umgesetzt wurde.

Durch Erhitzen von Resorzin mit Natriumbikarbonat in Glycerin nach Brunner<sup>13)</sup> erhielten wir die 2,6-Dioxybenzoesäure (I),  $\gamma$ -Resorzylsäure (VIII), die wir mit HCl-Gas zum Propylester veresterten.

Die 2,5-Dioxybenzoesäure (I), Gentisinsäure (IX) stellten wir durch Erhitzen von Kaliumhydroxyd mit Jodsäure her und veresterten sie in gleicher Weise mit Methyl- und Propylalkohol.



Ebenso wurde auch die Gallussäure mit Methyl-, Propyl- und Butylalkohol verestert. Dimethylsulfat führte die Gallussäure, wie schon C. Graebe und E. Martz<sup>14)</sup> beobachteten, teils in 3,5-Dioxy-4-methoxybenzoesäure (I) (X), teils in deren Methyl ester über; wir gewannen außerdem noch den Propylester der Säure mit Hilfe von HCl-Gas.

11) Ber. Dtsch. Chem. Ges. 18, 1983 (1885).

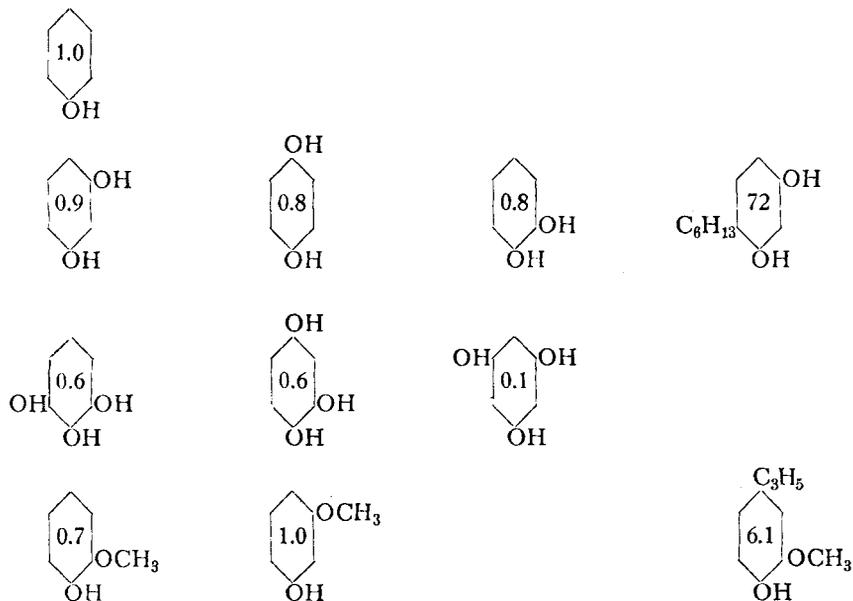
12) DRP. 464 529; Chem. Ztrbl. 1928, II, 1487.

13) Ann. Chim. 351, 321 (1907).

14) Ber. Dtsch. Chem. Ges. 36, 216, 660 (1903).

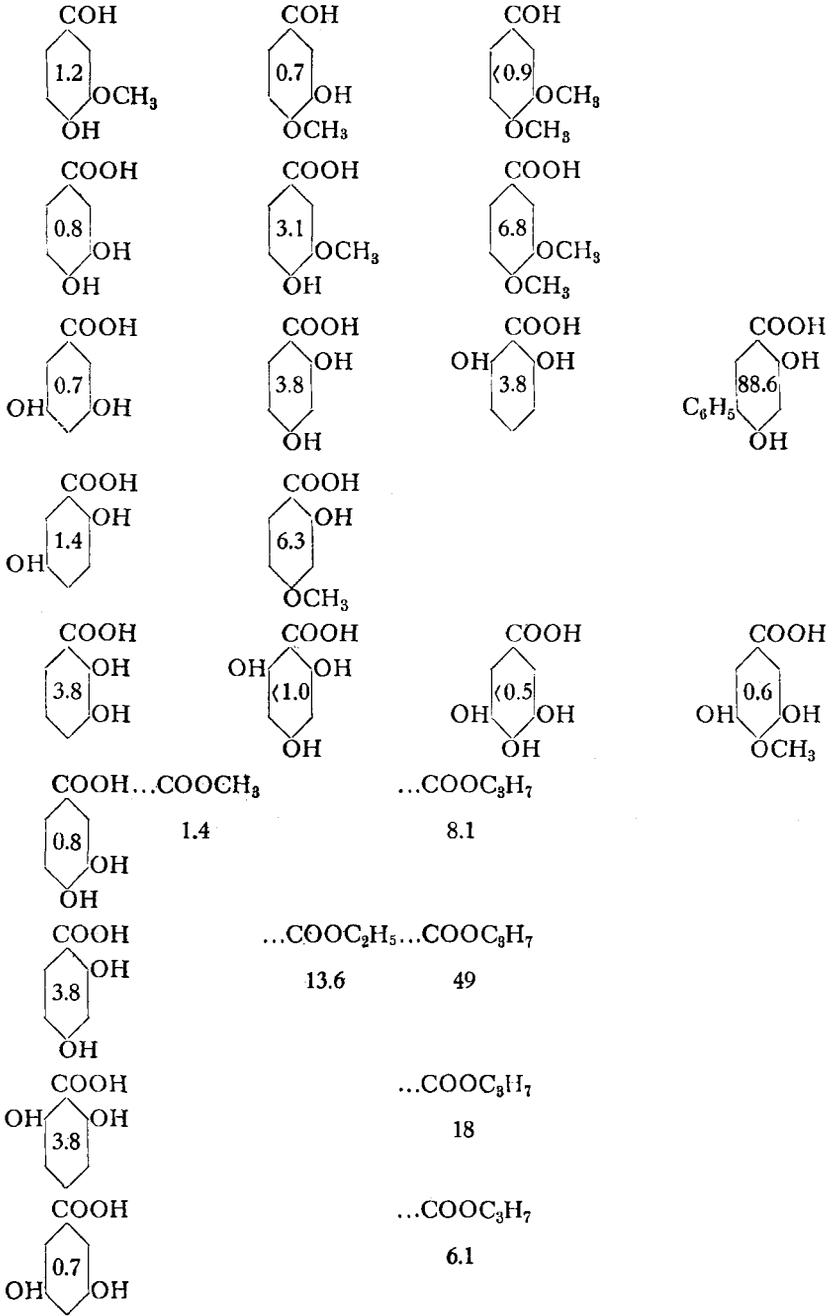
Das Silbersalz der 2,4,6-Trioxybenzoesäure (I), Phlorogluzin-karbonsäure (XI), die wir ähnlich Zd. H. S k r a u p <sup>15)</sup> durch Einwirkung warmer Kaliumbikarbonatlösung auf Phlorogluzin erhielten, gab mit Methyljodid nicht nur den Methylester dieser Säure, sondern auch einer 3,5-Dimethyl-phlorogluzin-karbonsäure (XII), was den Beobachtungen von J. Herzig, F. Wenzel und P. Altmann <sup>16)</sup> entspricht. Eine einfache Veresterung der Säure mit Alkohol durch HCl-Gas ist wegen ihres leichten Zerfalls nicht durchführbar.

Neben der antimikrobischen Wirkung dieser Di- und Trioxybenzoesäuren, ihrer Ester und Äther prüften wir auch die antimikrobische Wirkung einiger anderer, ihnen strukturchemisch nahe stehender Verbindungen, so der mehrwertigen Phenole, des Vanillins und dergleichen. Es wurden die geringsten Mol.-Konzentrationen der Substanzen ermittelt, welche unter gleichen Bedingungen die Vergärung von Traubenzucker durch dieselbe Hefemenge gerade vollkommen verhinderten und unter Zugrundelegung der gleich wirksamen Mol.-Konzentration des Phenols die Wirkungsgrade berechnet. Diese sind in Tabelle 1 und 2 gemäß ihrer Größe geordnet, außerdem sind sie zum besseren Vergleich in der systematischen Zusammensetzung der geprüften Verbindungen jeweils in den Benzolkern eingetragen.



<sup>15)</sup> Monatsh. Chem. 10, 724 (1889).

<sup>16)</sup> Monatsh. Chem. 22, 219 (1901).



$\begin{array}{c} \text{COOH} \dots \text{COOCH}_3 \\   \\ \text{OH} \\   \\ \text{OH} \end{array}$	2.1	7.3	$\dots \text{COOC}_3\text{H}_7$		
$\begin{array}{c} \text{COOH} \dots \text{COOCH}_3 \dots \text{COOC}_2\text{H}_5 \dots \text{COOC}_3\text{H}_7 \dots \text{COOC}_4\text{H}_9 \dots \text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5 \\   \\ \text{OCH}_3 \\   \\ \text{OH} \end{array}$	1.7	7.3	10.4	33	48
$\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ \text{OH} \\   \\ \text{OH} \\   \\ \text{OH} \end{array}$	(0.5)	2.9	7.6	$\dots \text{COOC}_3\text{H}_7 \dots \text{COOC}_4\text{H}_9$	
$\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ \text{OH} \\   \\ \text{OH} \\   \\ \text{OCH}_3 \end{array}$	0.6	4.2	$\dots \text{COOC}_3\text{H}_7$		
$\begin{array}{c} \text{COOH} \dots \text{COOCH}_3 \\   \\ \text{OH} \\   \\ \text{OH} \\   \\ \text{OH} \end{array}$	(1.0)	2.7			

Den kleinsten Wirkungsgrad zeigt Phlorogluzin, nämlich 0.1, den höchsten die Hexylresorzin-karbonsäure, nämlich 88.6. Der Wirkungsgrad 1 des Phenols wird durch Einführung eines weiteren Hydroxyls sehr wenig, durch Einführung zweier weiteren Hydroxyle erheblicher herabgesetzt. Ähnliches ist schon von Talhimer und Palmer<sup>17)</sup>, Yabe<sup>18)</sup>, Lübbert<sup>19)</sup>, Th. Carnelley, Sc. Aberdeen und W. Frew<sup>20)</sup>, E. Loeffler<sup>21)</sup> und E. Hailer<sup>22)</sup> bei Abtötung oder Entwicklungsverhinderung von Bakterien, von H. Euler und B. Euler<sup>23)</sup> für die Wirkung auf Hefe und von J. Böeseken und H. Waterman<sup>24)</sup> für die entwicklungsverhindernde Wirkung gegenüber Penicillium beobachtet. Es sei dahingestellt, ob die all diesen Beobachtungen widersprechenden Angaben

<sup>17)</sup> Journ. of inf. dis. 9, 181 (1911).  
<sup>18)</sup> College of agric. 2, 73 (1894); Kochs Jahresber. 1894, 99.  
<sup>19)</sup> Lübbert, Biologische Spaltpilzuntersuchung. Würzburg 1886.  
<sup>20)</sup> Journ. chem. Soc. London 57, 636 (1890).  
<sup>21)</sup> Dtsch. med. Wchschr. 17, 353 (1891).  
<sup>22)</sup> Dtsch. med. Wchschr. 54, 1918 (1928).  
<sup>23)</sup> Fermentforsch. 1, 465 (1916).  
<sup>24)</sup> Koninkl. Akad. van Wetenschappen Amsterdam, Wisk. en Natk. Afd. 20, 552; Chem. Ztrbl. 1912, I, 1480; Ztrbl. Bakter., Parasitenk. II. Abt. 42, 639; Chem. Ztrbl. 1915, I, 620.

von O. Schöbl<sup>25)</sup>, daß die wachstumsverhindernde Aktivität des Phenols gegenüber säurefesten Bazillen mit der Zahl der OH<sub>2</sub>-Gruppen ansteigt, durch Versuchsfehler verursacht sind. Der Verschuß eines Hydroxyls durch Methyl in den zweiwertigen Phenolen, also die teilweise Methylierung des Brenzkatechins und Resorzins beeinflusst die Wirkung kaum, was in Übereinstimmung mit der Ähnlichkeit der Wirkungen der Karbolsäure und der zweiwertigen Phenole steht. Auch O. Schöbl<sup>25)</sup> berichtet, daß die wachstumsverhindernde Aktivität gegen säurefeste Bakterien von einer Alkylierung der OH<sub>2</sub>-Gruppen in Polyphenolen nicht beeinflusst wird, solange ein Hydroxyl frei bleibt. Die im Vergleich zum Pyrogallol besonders schwache Wirkung des Phlorogluzins steht im Widerspruch mit dem Verhalten des Verteilungskoeffizienten Lipoid/Wasser beider Phenole; vielleicht ist sie auf das Vorliegen der tautomeren Triketoform zurückzuführen.

Daß die Alkylierung des Ringes die Wirkung der Phenole erhöht, ist längst bekannt. Die Wirkung nimmt mit der Größe des eingeführten Alkyls im allgemeinen zu. Bei Einführung von Alkyl in das Guajakol steigt der Wirkungsgrad von 0.7 auf 6.1, bei Einführung von Hexyl in das Resorzin von 0.9 auf 72. Die erhebliche antimikrobische Wirkung des Hexylresorzins ist neuerdings von verschiedenen Autoren festgestellt, so von Dohme, Cox und Miller<sup>26)</sup>, V. Leonard<sup>27)</sup>, J. B. Brown und H. L. Wikoff<sup>28)</sup> und J. Houben u. H. W. Wollenweber<sup>29)</sup>; allerdings wird diese an sich starke Wirkung z. B. im Pflanzenkörper erheblich herabgesetzt, wie C. Stapp<sup>30)</sup> feststellte.

Die drei verschiedenartig methylierten Protokatechualdehyde, nämlich Vanillin, Isovanillin und Veratrumaldehyd unterscheiden sich in der Wirkung nicht erheblich, am stärksten wirkt das Vanillin mit *p*-Stellung des Karbonyls zum freien Hydroxyl. Einen deutlichen Anstieg der Wirkung sehen wir aber bei der Methylierung der Protokatechusäure; der Wirkungsgrad 0.8 der letzteren steigt über 3.1, bei der Vanillinsäure auf 6.8 der Veratrumensäure. Auch der Wirkungsgrad der 2,4-Dioxybenzoesäure 3.8 steigt bei der Methylierung des *p*-ständigen Hydroxyls auf 6.3 an, während bei der Gallussäure die Methylierung des *p*-ständigen Hydroxyls die Wirkung kaum verändert; das dürfte wohl auf die beiden in *o*-Stellung zur Methoxygruppe noch vorhandenen Hydroxyle zurückzuführen sein. Schon in den früheren Versuchen ist eine Wirkungssteigerung, und zwar eine noch stärkere als die hier beobachteten, bei der Methylierung des *p*-ständigen Hydroxyls der *p*-Oxybenzoesäure festgestellt. Die Säuren verhalten sich bei der Methylierung eines der vorhandenen Phenolhydroxyle anders als die zweiwertigen Phenole; dort hatte die teilweise Methylierung keine Erhöhung der Wirkung zur Folge. Ein-

<sup>25)</sup> Philippine Journ. Science 25, 123 (1924); Chem. Ztrbl. 1925, I, 2699.

<sup>26)</sup> Journ. Amer. chem. Soc. 48, 1688 (1926).

<sup>27)</sup> Science 62, 408 (1925); Journ. Amer. Med. Assoc. 83, 2005 (1924).

<sup>28)</sup> Ann. applied. Biol. 14, 436 (1927); Bot. Ztrbl. 12, 268 (1928).

<sup>29)</sup> Biochem. Ztschr. 204, 448 (1929).

<sup>30)</sup> Angew. Bot. 12, 275 (1930).

führung von Hexyl in den Kern steigert ebenso wie bei Resorzin auch die Wirkung der 2,4-Dioxybenzoesäure, und zwar von 3.8 auf 89. F. Hoffmann-La Roche<sup>31)</sup> stellten bereits eine erhebliche abtötende Wirkung des Natriumsalzes der Hexylresorzinkarbonsäure gegenüber Staphylokokken fest. L. Bleyer<sup>32)</sup> fand, daß gramnegative Bakterien und Organzellen durch dieses Salz direkt aufgelöst werden, grampositive nicht.

Die Wirkungsgrade der sechs isomeren Dioxybenzoesäuren zeigen deutlich einen erheblichen Einfluß der Anordnung der beiden Hydroxyle zum Karboxyl und zueinander. Den geringsten Wirkungsgrad 0.7 hatte die 3,5-Dioxybenzoesäure, bei welcher die beiden Hydroxyle in *m*-Stellung zum Karboxyl stehen. Den höchsten Wirkungsgrad 3.8 zeigen die drei Säuren, bei welchen das eine Hydroxyl in *o*-Stellung zum Karboxyl ist, also die durch ein weiteres Hydroxyl substituierten Salizylsäuren. Hier tritt die bereits bei den nur einfach durch Hydroxyl substituierten drei isomeren Oxybenzoesäuren gemachte Beobachtung in Erscheinung, daß die *o*-Stellung des Hydroxyls zum Karboxyl für die antimikrobische Wirkung die günstigste ist. Ein Vergleich mit Salizylsäure, für welche bei der Gärungsverhinderung unter ähnlichen Bedingungen der Wirkungsgrad 6.7 betrug, ergibt aber jedenfalls eine Herabsetzung der Wirkung durch die Einführung des zweiten Hydroxyls; die stärkste Herabsetzung sehen wir bei seiner Einführung in *p*-Stellung zu dem zum Karboxyl *o*-ständigen Hydroxyl, hier war der Wirkungsgrad 1.4. Geht man aber von der *p*-Oxybenzoesäure aus, deren Wirkungsgrad unter ähnlichen Bedingungen 2.2 war, so ergibt sich dabei eine Steigerung auf 3.8 bei Einführung des zweiten Hydroxyls in *o*-Stellung zum Karboxyl, eine Herabsetzung auf 0.8 bei Einführung in *m*-Stellung zum Karboxyl. Die Einführung zweier weiterer Hydroxyle setzt die Wirkung stets herab, gleichgültig, ob sie in *o*- oder *m*-Stellung zum Karboxyl erfolgt. Die Wirkung der dreifach hydroxylierten Säuren ist somit noch geringer als die der zweifach hydroxylierten, sie liegt bei beiden geprüften Säuren unter 1.

Interessant sind auch die von zwei- oder dreiwertigen Phenolen ausgehenden Betrachtungen über den Einfluß der Einführung des Karboxyls in diese auf die Wirkung. Karboxylierung in *p*-Stellung zu einem Hydroxyl läßt den Wirkungsgrad 0.8 des Brenzkatechins unverändert, Karboxylierung in *o*-Stellung steigert ihn auf ungefähr das Fünffache, nämlich auf 3.8. Einführung von Karboxyl in das Resorzin erhöht dessen Wirkungsgrad von 0.9 auf 3.8, wenn die Einführung in *o*-Stellung zu einem Hydroxyl oder zu beiden geschieht; geschieht sie in *m*-Stellung zu beiden Hydroxylen, so sehen wir umgekehrt ein geringes Fallen des Wirkungsgrad von 0.9 auf 0.7. Einführung von Karboxyl in das Hydrochinon, die nur in *o*-Stellung zu dem einen und *m*-Stellung zu dem anderen Hydroxyl geschehen kann, führt zu einer mäßigen Wirkungssteigerung von 0.8 auf 1.4. Karboxylierung des Guajakols in *p*-Stellung zum Hydroxyl bedingt eine Wirkungssteige-

<sup>31)</sup> DRP. 464 529; Chem. Ztrbl. 1928, II, 1487.

<sup>32)</sup> Biochem. Ztschr. 181, 350 (1927).

zung von 0.7 auf 3.1; ist die *m*-ständige Hydroxylgruppe aber nicht durch Methyl verschlossen, so haben wir bei gleicher Substitution keine Wirkungssteigerung, wie das Verhalten des Brenzkatechins und der Protokatechusäure zeigt. Karboxylierung in *o*- und *p*-Stellung zu den beiden Hydroxylen des bereits stark wirksamen Hexylresorzins erhöht den an sich bereits sehr hohen Wirkungsgrad von 72 auf 87, also relativ nur mehr wenig. Die Wirkung des Pyrogallols wird durch Einführung von Karboxyl in *p*-Stellung zum mittleren Hydroxyl herabgesetzt. Man könnte aus all diesen Beobachtungen schließen, daß bei den Phenolkarbonsäuren die *o*-Anordnung des Hydroxyls und Karboxyls für die antimikrobische Wirkung besonders günstig, die *m*-Anordnung aber ungünstig ist; der Einfluß der *p*-Anordnung ist gering und unklar.

Die Einführung von Karbonyl in *p*-Stellung zu einem freien Hydroxyl steigert den Wirkungsgrad, wie Guajakol mit 0.7 und Vanillin mit 1.2 zeigen; die Einführung der Karbonylgruppe in *m*-Stellung erhöht den Wirkungsgrad nicht, Isovanillin wirkt ebenso wie Guajakol. Im Gegensatz zu der Beobachtung bei Vanillinsäure erhöht Methylierung des zweiten Hydroxyls im Vanillin den Wirkungsgrad nicht, sondern setzt ihn herab.

Veresterung der obigen Säuren mit Methylalkohol erhöht fast immer, mit den höheren Alkoholen durchwegs den Wirkungsgrad. Er steigt mit der Größe des bei der Veresterung eingeführten Alkyls; so erreicht der Propylester der 2,4-Dioxybenzoesäure bereits den Wirkungsgrad 49, der Benzylester der Vanillinsäure den Wirkungsgrad 48. Nur der Methylester der Vanillinsäure zeigt eine etwas schwächere Wirkung als die freie Säure, der Äthylester wirkt aber bereits über zweimal so stark wie die freie Säure. Die Veresterung der an sich dem Phenol an Wirkung unterlegenen Säuren, so der 3,4- und 3,5-Dioxybenzoesäure und der Gallussäure, mit höheren Alkoholen führt zu Verbindungen, die dem Phenol drei- bis achtmal überlegen sind. Der Methylester der Gallussäure konnte allerdings die Gärung auch in der möglichen Höchstkonzentration nicht verhindern. Selbst als wir 10 ccm einer 1.1%igen Lösung desselben 24 Stunden auf 0.04 g Hefe einwirken ließen und dann 0.08 g Traubenzucker zusetzten, fand noch eine Gärung statt. Dies sei deshalb besonders erwähnt, da der Gallussäuremethylester mitunter als Antiseptikum, wohl zu Unrecht, empfohlen wird<sup>88)</sup>.

Die Propylester wirken 3- bis 13mal stärker als ihre freien Säuren; für die *p*-Oxybenzoesäure ist ebenfalls bei der Gärungsverhinderung eine ungefähr 12fache Wirkungssteigerung durch die Veresterung mit Propylalkohol gefunden, was sich der hier beobachteten Wirkungssteigerung anpaßt. Der Wirkungsgrad des *p*-Oxybenzoesäurepropylesters (Nipasol) betrug 25. Die Einführung eines zweiten Hydroxyls in jenen Ester steigert seine Wirkung auf 49, wenn sie in *o*-Stellung zum Karboxyl geschieht, sie setzt sie auf 8.1 herab, wenn sie in *m*-Stellung geschieht. Der höchste Wirkungsgrad wird erreicht bei Anordnung der veresterten Karboxylgruppe in *o*- und *p*-Stellung

<sup>88)</sup> Hager, Handbuch der pharmazeutischen Praxis I, 152 (1925).

zum Hydroxyl; dann folgen die Ester, bei welchen das veresterte Karboxyl in di-*o*-Stellung zum Hydroxyl ist, die schwächste Wirkung zeigen die Ester, bei welchen das veresterte Karboxyl in di-*m*-Stellung zum Hydroxyl sich befindet. Diesem Einfluß der *p*- und *m*-ständigen Hydroxyle entsprechen die Wirkungsveränderungen bei ihrem Verschluß durch Alkyl. Der Wirkungsgrad des 2,4-Dioxybenzoesäurepropylesters 49 sinkt bei Methylierung des *p*-ständigen Hydroxyls unter 26, der Wirkungsgrad des Protokatechusäurepropylesters 8.4 steigt auf 10.4 bei Methylierung des *m*-ständigen Hydroxyls.

Die Stellung der Hydroxyle und des freien Karboxyls einerseits und der Hydroxyle und des veresterten Karboxyls andererseits beeinflusst den Wirkungsgrad nur einigermaßen, aber keineswegs ganz gleichmäßig, so daß die Beobachtungen bei den Säuren nicht ohne weiteres auf die Ester übertragbar sind. Die bei den Estern hervortretende Verstärkung der Wirkung durch ein *p*-ständiges Hydroxyl besteht bei den Säuren nicht. Die Wirkungsgrade der 2,4- und der 2,6-Dioxybenzoesäuren betragen beide 3.8, die der Propylester der beiden Säuren aber 49 und 18. Dagegen beeinträchtigen *o*- und *m*-ständige Hydroxyle die Wirkungsgrade der Ester in ähnlicher Weise wie die der freien Säure.

Auch für die mehrfach hydroxylierten Benzoesäuren und ihre Ester gilt somit die bereits für die Monoxybenzoesäuren und ihre Ester gemachte Feststellung, daß die antimikrobische Wirkung durch Veresterung der Säuren erheblich gesteigert wird, daß die antimikrobische Wirkung mit der Größe des in den Ester eingeführten Alkyls ansteigt und daß für die antimikrobische Wirkung der Säuren die *o*-Stellung, für die antimikrobische Wirkung der Ester die *p*-Stellung des Hydroxyls besonders günstig ist. Diese Versuche lassen aber auch erkennen, daß eine Beziehung zwischen der chemischen Konstitution und der biologischen Wirkung um so schwieriger aufzufinden ist, je komplizierter die zu derartigen Studien herangezogenen Stoffe gebaut sind, je mehr Substituenten die biologische Wirkung beeinflussen können.

#### Beschreibung der Versuche.

##### Vanillinsäure und Protokatechusäure.



250 g Vanillin trugen wir in eine Schmelze von 350 g Kaliumhydroxyd in kleinen Portionen ein und hielten die Schmelze  $\frac{3}{4}$  Stunden bei 180 bis 220°. Aus der Lösung des Schmelzproduktes in  $\frac{3}{4}$  Liter heißem Wasser kristallisierten beim Erkalten die Kaliumsalze der entstandenen Säuren teilweise aus. Das Gemisch übersättigten wir mit Schwefelsäure, wobei wir eine Lösung und einen Bodensatz erhielten. Erstere schüttelten wir mit Äther aus, letzteren extrahierten wir mit Alkohol. Beide Auszüge dampften wir ein und kristallisierten die vereinten Rückstände aus Wasser mehrmals um.

Die erhaltenen Kristalle waren Vanillinsäure. Sie gaben mit Eisenchlorid kaum eine Färbung und schmolzen bei 210°<sup>34)</sup>.

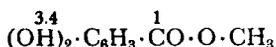
Aus 0.2817 g Subst.

$C_8H_8O_4$  (168.06). Ber.: C 57.12, H 4.80.  
Gef.: C 57.04, H 4.82.

Die Mutterlauge gab mit Eisenchlorid eine starke blaugrüne Färbung und enthielt die Protokatechusäure. Letztere entzogen wir mit Äther, entfernten nach dem Verdunsten des Äthers durch Ausziehen mit heißem Benzol die noch vorhandene Vanillinsäure und kristallisierten unter Anwendung von Kohle aus Wasser um. Schmp. 198°.

Die für die Reinigung der Stoffe angewandte Knochenskohle mußte vorher mit 10%iger Salzsäure wiederholt ausgekocht, gut nachgewaschen und getrocknet werden, da anderenfalls die Färbung infolge des geringen Eisengehaltes der Kohle und des Phenolcharakters der Verbindungen meist noch stärker wurde.

#### Protokatechusäure-methylester.



Unter Berücksichtigung der Angaben von K. U. Matsumoto und P. J. Meyer<sup>35)</sup> lösten wir 15 g Protokatechusäure in 70 g Methylalkohol, sättigten sie mit Salzsäure, erhitzen 7 Stunden, destillierten den Alkohol ab und schüttelten den mit Äther aufgenommenen Rückstand mit Natriumbicarbonatlösung. Das nach dem Vertreiben des Äthers verbleibende Rohprodukt kristallisierten wir mehrmals aus Wasser und Toluol um. Schmp. 135°. Löslich in Wasser zu 0.5%<sup>36)</sup>.

#### Protokatechusäure-n-propylester.



15 g Säure und 70 g Propylalkohol erhitzen wir 3 Stunden unter Einleiten von Salzsäuregas und verfahren weiter wie beim Methylester. Beim Verdunsten des Äthers hinterblieb der feste Ester (Rohausbeute 75%<sup>37)</sup>). Er wurde aus Wasser wiederholt umkristallisiert.

Schmp. 115°, löslich in Wasser zu 0.15%, leicht löslich in Azeton, Alkohol, Äther, wenig in Benzin, aus Benzol, Toluol und Wasser umkristallisierbar.

Zur Charakterisierung der Ester benutzten wir außer der Elementaranalyse ihren Laugeverbrauch bei Verseifung oder bei direkter Titration der p-ständigen Hydroxylgruppe, soweit diese durchführbar waren. Näheres

<sup>34)</sup> Alle Schmelzpunkte sind uncorr.

<sup>35)</sup> Ber. Dtsch. Chem. Ges. 11, 129 (1878).

<sup>36)</sup> Die zahlenmäßigen Angaben der Löslichkeiten in Wasser oder wässrigem Glycerin beziehen sich auf Zimmertemperatur; sie entsprechen praktischen Bedürfnissen, wie sie hier vorliegen, und sind nicht absolut genau.

<sup>37)</sup> Ausbeuten sind stets berechnet auf Prozente der theoretisch erhältlichen Menge.

darüber ist bereits in der vorhergehenden Mitteilung X gesagt (S. 236). Außer dem dort beschriebenen Indikator Alizarin gelb R benutzten wir hier auch Poirriers-Blau, das bereits von H. Imbert und Astruc<sup>38)</sup> für die Titration der Protokatechusäure und Vanillinsäure verwendet wurde. Von letzterem Indikator wurden 15 bis 20 Tropfen einer 0.2%igen wässrigen Lösung zu ungefähr 200 ccm der zu titrierenden Flüssigkeit gegeben. Der Umschlag erfolgt von reinem Blau in saurer Lösung in Violett-Rosa bei alkalischer Reaktion. Die zu prüfende Verbindung kam in ungefähr 0.1%iger Lösung zur Anwendung. Bei den Estern der Protokatechusäure und Gallussäure ist der Farbumschlag der Indikatoren, insbesondere des Alizarin gelbs, schlecht zu beobachten, da die Säuren selbst mit den Laugen dunkle Färbungen geben, was sich besonders bei der Verseifung störend bemerkbar macht.

Aus 0.2411 g Sbst.

$C_{10}H_{12}O_4$  (196.1). Ber.: C 61.19, H 6.17.

Gef.: C 61.20, H 6.20.

Direkte Titration: 0.3284 g Sbst. verbrauchten 16.85 ccm  $n_{10}$  Lauge (ber. 16.75 ccm).

### Vanillinsäure-methylester, -äthylester, -propylester.



Wir bereiteten die Ester aus der Säure und den Alkoholen mit Hilfe von Chlorwasserstoff. Sie fielen nach dem Einengen der alkoholischen Lösungen auf Zusatz von Wasser ölig aus und wurden durch Destillation gereinigt. Der Methylester (schon erhalten von K. U. M a t s m o t o<sup>39)</sup>) destillierte bei 285 bis 287°, 760 mm; Schmelzpunkt nach Kristallisation aus 20%igem Alkohol 61 bis 62°. Siedepunkt bei 14 mm 157 bis 159°. Löslich in Wasser zu 0.2%. Der nach zweimaliger Destillation bei 293 bis 295°, 760 mm, ein Öl darstellende Äthylester (schon erhalten von F. T i e m a n n und B. M e n d e l s o h n<sup>40)</sup>) kristallisierte beim Durchrühren mit Wasser. Schmp. 43°. Löslich in Wasser zu 0.2%. Der bei 304 bis 306°, 760 mm, übergegangene Propylester erstarrte bei Zimmertemperatur zu einer kristallischen weißen Masse (Rohausbeute 62%). Schmelzpunkt nach Umkristallisieren aus Wasser 43°.

Löslich in Wasser zu 0.075%, leicht löslich in Äther, Alkohol, Chloroform, Ligroin, Benzol, schwerer in verdünntem heißem Alkohol, aus dem der Ester beim Abkühlen sich ölig ausschied.

Aus 0.3071 g Sbst.

$C_{11}H_{14}O_4$  (210.11). Ber.: C 62.82, H 6.72.

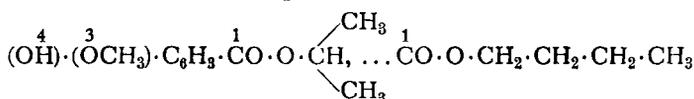
Gef.: C 62.93, H 6.73.

Direkte Titration: 0.2063 g Sbst. verbrauchten 1.95 ccm  $n_{1/2}$  Lauge (ber. 1.96 ccm).

<sup>38)</sup> Compt. rend. Acad. Sciences 130, 37 (1900)

<sup>39)</sup> Ber. Dtsch. Chem. Ges. 11, 128 (1878).

<sup>40)</sup> Ber. Dtsch. Chem. Ges. 10, 59 (1877).

Vanillinsäure-*iso*-propylester, *n*-butylester.

Die Ester erhielten wir analog dem Methylester der Protokatechusäure. Der *iso*-propylester (Rohausbeute 80%) wurde aus 20%igem Alkohol und dann aus Wasser umkristallisiert, der Butylester (Rohausbeute 43%) aus Alkohol.

*iso*-propylester. Schmp. 113.5°. Löslich in Wasser zu 0.03%, leicht löslich in Alkohol, Benzol und Äther.

Aus 0.319 g Sbst.

$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_4$  (210.11). Ber.: C 62.82, H 6.72.  
Gef.: C 62.68, H 6.80.

Direkte Titration: 0.2562 g Sbst. verbrauchten 2.50 ccm  $n/2$  Lauge (ber. 2.44 ccm).

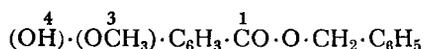
Butylester. Schmp. 48 bis 49°. Löslich in Wasser zu 0.02%, in 10%igem Glycerin zu 0.05%, leicht löslich in Alkohol, Benzol, Äther.

Aus 0.2179 g Sbst.

$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_4$  (224.13). Ber.: C 64.25, H 7.20.  
Gef.: C 64.26, H 7.11.

Direkte Titration: 0.2917 g Sbst. verbrauchten 2.68 ccm  $n/2$  Lauge (ber. 2.60).

## Vanillinsäure-benzylester.



Durch Eindampfen einer wässrigen Lösung von 12.9 g Vanillinsäure (also einem geringen Überschuss) und 7.5 g Kaliumbikarbonat erhielten wir Kaliumvanillinat (15.8 g). Dasselbe wurde in einem Gemisch von 50 g Benzylalkohol und 25 g Benzylchlorid verteilt, das ganze am Heißwasser-Rückflußkühler erhitzt, hierauf der Alkohol und sein Chlorid im Vakuum abdestilliert, der Rückstand mit Äther aufgenommen und dieser mit verdünnter Natronlauge durchgeschüttelt. Mit Salzsäure fällten wir aus der Lauge den Ester wieder, nahmen ihn mit Äther auf und schüttelten nochmals mit Natriumbikarbonatlösung. Der beim Verdunsten des Äthers verbleibende Rückstand (Rohausbeute 19%) destillierte bei 228 bis 232°/15 mm, wir kristallisierten nach zweimaliger Destillation aus verdünntem Alkohol um.

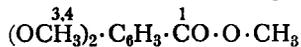
Schmp. 33 bis 34°. Löslich in Wasser zu 0.01%, in 10%igem Glycerin zu 0.02%, leicht löslich in Alkohol, Benzol, Toluol, Chloroform, Äther, unlöslich in Benzin.

Aus 0.1937 g Sbst.

$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_4$  (258.11). Ber.: C 69.74, H 5.47.  
Gef.: C 69.89, H 5.41.

Direkte Titration: 0.3713 g Sbst. verbrauchten 2.95 ccm  $n/2$  Lauge (ber. 2.88 ccm).

## Veratrumsäuremethyl ester.



Zu einer Lösung von 10.7 g Vanillinsäuremethyl ester und 3.3 g Kaliumhydroxyd in 40 g Methylalkohol gaben wir 12 g Methyljodid und erhitzen das Gemisch kräftig 10 Stunden am Rückflußkühler. Nach Vertreiben des Alkohols und seines Jodids wurde der Rückstand mit Äther aufgenommen, die Ätherlösung mit Natronlauge gewaschen und der Äther verdunstet (Rohausbeute 85%). Den Rückstand destillierten wir bei 162 bis 163°/15 mm und kristallisierten aus 10%igem Methylalkohol um. Schmp. 60°. Löslich in Wasser zu 0.1%. Die Eigenschaften des so erhaltenen Esters entsprachen den von Körner<sup>41)</sup> und Matsmoto<sup>42)</sup> bereits angegebenen, welche den Ester auf anderem Wege dargestellt hatten.

## Veratrumsäurenpropylester.



Dieser Ester wurde analog dem vorhergehenden aus 10.5 g Vanillinsäurepropylester, 7.1 g Methyljodid und 2.8 g Kaliumhydroxyd, die in 100 ccm Methylalkohol gelöst waren, bereitet. Die Reinigung des Rückstandes der ätherischen Lösung geschah durch zweimalige Destillation, 173 bis 178°/15 mm und 175 bis 177°/15 mm.

Farbloses Öl. Löslich in Wasser zu 0.003%, leicht löslich in Alkohol, Äther, Benzol, Chloroform.

Aus 0.2644 g Sbst.



Gef.: C 64.83, H 7.07.

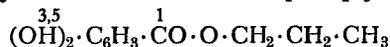
Verseifung: 0.5270 g Sbst. verbrauchten 4.70 ccm  $n/2$  Lauge (ber. 4.70 ccm).

## Veratrumsäure.



Die alkoholische Lösung der Ester der Säure wurde mit  $n/2$  Kalilauge gekocht, nach Übersättigen mit Säure und Zusatz von Wasser der Alkohol durch Erhitzen vertrieben und aus der erhaltenen wässrigen Lösung die Veratrumsäure mit Äther ausgezogen, wobei wir die Säure in reiner Form erhielten. Schmp. 181 bis 182°. Löslich in Wasser zu 0.1%.

## 3,5-Dioxybenzoesäurenpropylester (1).



Die 3,5-Dioxybenzoesäure ( $\alpha$ -Resorzylsäure) bereiteten wir durch Eintragen von 12 g der entsprechenden Disulfosäure in 50 g geschmolzenes Ätzkali unter Erhitzen bis zur Wasserstoffentwicklung

<sup>41)</sup> Gazz. chim. Ital. 6, 146; Jahresber. über die Fortschritte der Chem. 1876, 601.

<sup>42)</sup> Ber. Dtsch. Chem. Ges. 11, 128 (1878).

nach L. Barth und K. Senhofer<sup>43)</sup>. Schmp. 222° (unscharf). Die Disulfonsäure erhielten wir nach den Angaben von Hohenzemer<sup>44)</sup>.

Eine Lösung von 10 g der Säure in 100 g *n*-Propylalkohol wurde nach Sättigen mit HCl-Gas 10 Stunden am Rückflußkühler erhitzt und im übrigen wie beim Protokatechusäuremethylester verfahren (Rohausbeute 70%). Der ölige Rückstand destillierte bei 225 bis 230°/13 bis 15 mm. Bei wiederholtem Ausfällen aus einer mäßig konzentrierten alkoholischen Lösung mit Wasser schied sich der Ester kristallinisch aus.

Schmp. 60 bis 61°. Leicht löslich in Alkohol, Äther, schwerer in Benzol und Tetrachlorkohlenstoff.

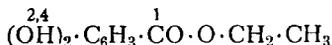
Aus 0.2439 g Sbst.

$C_{10}H_{12}O_4$  (196.10). Ber.: C 61.19, H 6.17

Gef.: C 61.53, H 6.25.

Verseifung: 0.3826 g Sbst. verbrauchten 3.85 ccm *n*/<sub>2</sub> Lauge (ber. 3.90 ccm).

#### 2,4-Dioxybenzoesäure-*n*-Äthylester (1).



Die 2,4-Dioxybenzoesäure ( $\beta$ -Resorzylsäure) bereiteten wir nach A. Bistrzycki und St. v. Kostanecki<sup>45)</sup>, nur setzten wir der Resorzin-kaliumbikarbonat-Lösung zur Verhinderung der Oxydation etwas Kaliumsulfit zu. Ein Gemisch von 20 g Säure, 60 g absolutem Alkohol und 5 g konzentrierter Schwefelsäure wurde 22 Stunden am Rückflußkühler erwärmt, sodann mit Natriumbikarbonat die Säure abgestumpft, der Alkohol verdampft und der Rückstand mit Wasser und Äther ausgeschüttelt. Der Ätherauszug hinterließ beim Abdampfen des Äthers ein dickes, allmählich erstarrendes Öl (Rohausbeute 80%). Es wurde aus verdünntem Methylalkohol umkristallisiert. Beim Umkristallisieren aus Toluol erhielten wir Resorzin, das nebenher unter Zersetzung der Säure entstanden war.

Schmp. 71 bis 72°, löslich in Wasser zu 0.15%, löslich in Benzol, Alkohol, Azeton.

Aus 0.2916 g Sbst.

$C_9H_{10}O_4$  (182.08). Ber.: C 59.31, H 5.54.

Gef.: C 59.35, H 5.44.

Direkte Titration: 0.3224 g Sbst. verbrauchten 3.55 ccm *n*/<sub>2</sub> Lauge (ber. 3.54 ccm).

#### 2,4-Dioxybenzoesäure-*n*-Propylester (1).



Der Ester wurde analog dem vorhergehenden bereitet. Beim Umkristallisieren des Rohproduktes aus Tetrachlorkohlenstoff schied

<sup>43)</sup> LIEBIGS Ann. 159, 222 (1871).

<sup>44)</sup> Ber. Dtsch. Chem. Ges. 35, 2305 (1902).

<sup>45)</sup> Ber. Dtsch. Chem. Ges. 18, 1983 (1885).

sich zunächst ein Öl ab, die weitere Reinigung geschah durch Umkristallisieren aus verdünntem Methylalkohol.

Schmp. 39°, löslich in Wasser zu 0.075%, leicht löslich in Benzol, Chloroform, Alkohol, Äther, Azeton.

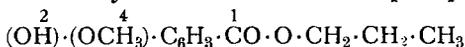
Aus 0.3611 g Sbst.

$C_{10}H_{12}O_4$  (196.10). Ber.: C 61.19, H 6.17.

Gef.: C 61.46, H 6.05.

Direkte Titration: 0.2502 g Sbst. verbrauchten 2.55 ccm  $n/2$  Lauge (ber. 2.55 ccm).

2-Oxy-4-methoxybenzoesäure-*n*-propylester (1).



Die 2-Oxy-4-methoxybenzoesäure bereiteten wir nach M. Gombert und I. C. Johnson<sup>46)</sup>. Löslich in Wasser zu 0.6%.

Den Ester erhielten wir aus 15 g Säure und 85 g Propylalkohol analog dem Vanillinsäure-*iso*-propylester. Der beim Verdunsten des Äthers erhaltene Rückstand (Rohausbeute 62%) gab bei 153 bis 155°/15 mm als Destillat ein farbloses Öl, das auch bei mehrfacher Destillation nicht kristallin wurde.

Leicht löslich in Alkohol, Benzol, Chloroform, Äther.

Aus 0.2449 g Sbst.

$C_{11}H_{14}O_4$  (210.11). Ber.: C 62.82, H 6.72.

Gef.: C 62.04, H 6.67.

Verseifung: 0.5276 g Sbst. verbrauchten 5.1 ccm  $n/2$  Lauge (ber. 5.02 ccm).

5-Hexyl-2,4-dioxybenzoesäure-methylester (1).



Die Hexylresorzin-karbonsäure erhielten wir in Anlehnung an Hoffmann-La Roche<sup>47)</sup>. Wir erhitzten eine Verreibung von 13 g Hexylresorzin (im Handel als Alkorzin, Hersteller Dr. E. Silten, Berlin NW 6), 30 g Ammoniumkarbonat und 60 g Wasser im Thomsschen Schüttelofen 20 Stunden auf 110°. Das Reaktionsprodukt bestand aus einer öligen und einer wässrigen Schicht; erstere schüttelten wir mit Natriumbikarbonatlösung aus und gewannen aus dieser und aus der wässrigen Schicht nach dem Ansäuern durch Ausäthern die rohe Säure (Rohausbeute 10%), die durch Umkristallisieren aus Toluol gereinigt wurde.

Schmp. 175°. Löslich in Wasser zu 0.01%, in 10%igem Glycerin zu 0.02%.

Durch Eindampfen einer Lösung von 0.55 g Säure (also einem geringen Überschuß) und 0.225 g Kaliumbikarbonat auf dem Wasserbade bereiteten wir 0.65 g Kaliumsalz der Säure, das wir weiter mit 10 g Methyljodid und 50 ccm Methylalkohol 8 Stunden lang erhitzten. Nach vorsichtigem Einengen der Lösung nahmen wir den Rückstand mit Äther auf; beim Verdampfen des letzteren verblieb

<sup>46)</sup> Journ. Amer. chem. Soc. 39, 1687 (1917).

<sup>47)</sup> DRP. 464 529; Chem. Ztrbl. 1928, II, 1487.

zunächst ein Öl, das dann erstarrte (Rohausbeute 73%). Der Ester wurde aus verdünntem Alkohol umkristallisiert.

Schmp. 101°. Löslich in Wasser zu etwa 0.001%, in 10%igem Glycerin zu 0.0025%, leicht löslich in Äther, Alkohol und Chloroform, schwerer in Benzol.

Aus 0.1635 g Sbst.

$C_{14}H_{20}O_4$  (252.16). Ber.: C 66.62, H 8.00.  
Gef.: C 66.87, H 8.03.

### 2,6-Dioxybenzoesäure-*n*-propylester (1).



Die Säure,  $\gamma$ -Resorzylsäure, bereiteten wir nach Brunner<sup>48)</sup> durch Erhitzen von Resorzin und Natriumbikarbonat in Glycerin. Das erhaltene Gemisch wurde sodann mit Salzsäure angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt, aus letzterem holten wir die Säuren durch Schütteln mit wässriger Natriumbikarbonatlösung. Beim Ansäuern derselben mit Salzsäure fielen im wesentlichen  $\gamma$ - und  $\beta$ -Resorzylsäure aus, die wir durch Chloroform trennten, in welchem die  $\gamma$ -Säure leichter löslich ist. Die Umkristallisation geschah aus Wasser. Schmp. 153° (mit starker Zersetzung).

Den Ester erhielten wir durch 10stündiges Erhitzen einer mit HCl-Gas gesättigten Lösung von 15 g Säure in 70 g *n*-Propylalkohol und weitere Verarbeitung gemäß dem Vanillinsäure-isopropylester. Die Reinigung des Rohproduktes (Rohausbeute 58%) geschah durch Destillation bei 178 bis 182°/15 mm.

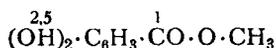
Dickflüssiges Öl. Löslich in Wasser zu 0.07%, leicht löslich in Chloroform, Äther, Alkohol, Benzol, schwerer in Benzin. Mit Wasserdämpfen flüchtig.

Aus 0.2859 g Sbst.

$C_{10}H_{12}O_4$  (196.10). Ber.: C 61.19, H 6.17.  
Gef.: C 61.15, H 6.15.

Verseifung: 0.1983 g Sbst. verbrauchten 2.25 ccm  $n/2$  Lauge (ber. 2.02 ccm).

### 2,5-Dioxybenzoesäure-methylester (1).



Bei der Herstellung der 2,5-Dioxybenzoesäure (1), Gentisinsäure, gingen wir von der 5-Jodsalizylsäure aus, die wir nach M. Haase<sup>49)</sup> gewannen. Die Jodsalizylsäure wurde entsprechend E. Lautemann<sup>50)</sup>, A. Goldberg<sup>51)</sup> und A. K. Miller<sup>52)</sup> mit der doppelten Menge Kaliumhydroxyd geschmolzen, wobei sich lebhaft Joddämpfe entwickelten. Beim Ansäuern der wässrigen Lösung der Schmelze mit Schwefelsäure fiel ein Gemisch von Kaliumsulfat und Säure aus.

<sup>48)</sup> LIEBIGS Ann. 351, 321 (1907).

<sup>49)</sup> DRP. 224 536; Chem. Ztrbl. 1910, II, 700.

<sup>50)</sup> LIEBIGS Ann. 120, 311 (1861).

<sup>51)</sup> Journ. prakt. Chem. 19, 371 (1879).

<sup>52)</sup> LIEBIGS Ann. 220, 124 (1883).

Durch Extraktion der Lösung und des Niederschlages mit Äther erhielten wir die rohe Säure (Rohausbeute 95%), die wir durch Extraktion mit Benzol von Jod und anderen Beimengungen befreiten und durch zweimalige Umkristallisation aus Wasser reinigten.

Den schon von C. Graebe und E. Martz<sup>53)</sup> beschriebenen Methylester der Gentsinsäure erhielten wir analog dem Protocatechusäuremethylester (Erhitzungsdauer 15 Stunden) und Umkristallisieren des Rohproduktes aus einem Chloroform-Ligroin-Gemisch. Schmp. 87°.

### 2,5-Dioxybenzoesäure-*n*-propylester (1).



Diesen Ester gewannen wir ebenso wie den Methylester. Die beim Verdampfen des Äthers zurückbleibende sirupöse Masse erstarrte unter Ligroin; sie wurde aus 10%igem Alkohol umkristallisiert.

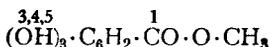
Schmp. 60°. Löslich in Wasser zu 0.13%, leicht löslich in Alkohol, Äther, Benzol, Chloroform.

Aus 0.3214 g Subst.



Verseifung: 0.4528 g Subst. verbrauchten 4.70 ccm  $n/2$  Lauge (ber. 4.62 ccm).

### 3,4,5-Trioxybenzoesäure-methylester (1).



Den bereits bekannten Ester bereiteten wir durch Veresterung der Säure und des Alkohols mit HCl-Gas (Rohausbeute 75%). Nach Umkristallisieren aus Wasser Schmp. 199°. Löslich in Wasser zu 1.1%.

### 3,4,5-Trioxybenzoesäure-*n*-propylester (1).



55 g Gallussäure schwemmten wir in 200 ccm *n*-Propylalkohol auf, sättigten mit HCl-Gas und erhitzen, wobei innerhalb 2 Stunden die Säure vollkommen in Lösung ging, also zum erheblichen Teil verestert war. Nach dem Abdampfen des Alkohols nahmen wir mit Äther auf, schüttelten diesen mit Natriumbikarbonatlösung durch und dampften ihn ab (Rohausbeute 88%). Das Produkt zersetzte sich bei Vakuumdestillation, beim Umkristallisieren aus Wasser kristallisiert der Ester mit Kristallwasser in Nadeln aus, aus Benzol erhielten wir ihn frei von Kristallwasser.

Schmp. 146° (aus Benzol). Löslich in Wasser zu 0.6%.

Aus 0.2583 g Subst.



Direkte Titration: 0.2013 g Subst. verbrauchten 9.4 ccm  $n/10$  Lauge (ber. 9.49 ccm).

<sup>53)</sup> LIEBIGS Ann. 340, 214 (1905).

3,4,5-Trioxybenzoesäure-*n*-butylester (1).

Der Ester wurde in gleicher Weise wie der Propylester aus 36 g Säure und 60 g *n*-Butylalkohol bereitet (Rohausbeute 80%). Beim Umkristallisieren aus Wasser schied sich der Ester beim Erkalten zuerst ölig ab und erstarrte dann allmählich zu einer gelben Masse. Die weitere Kristallisation erfolgte aus 10%igem Alkohol und Benzol; im ersteren Fall enthielt der Ester Kristallwasser.

Schmp. 90° (aus 10%igem Alkohol); 140° (aus Benzol). Löslich in Wasser zu 0.15%.

Aus 0.3715 g Sbst.

$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_5$  (226.11). Ber.: C 58.38, H 6.24.

Gef.: C 58.46, H 6.20.

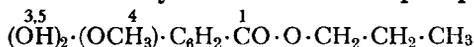
Direkte Titration: 0.2036 g Sbst. verbrauchten 8.9 ccm  $n/_{10}$  Lauge (ber. 9.0 ccm).

## 3,5-Dioxy-4-methoxybenzoesäure-methylester (1).



Wir bereiteten den Ester ähnlich C. Graebe und E. Martz<sup>54)</sup> aus Gallussäure und Dimethylsulfat, wobei wir aber nicht kochten, sondern das Reaktionsgemisch zuerst eine Stunde schüttelten und hernach 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehen ließen. Ausgehend von 30 g Gallussäure erhielten wir so 11 g methylierte Säure und 5.3 g Methylester derselben. Der Ester ist löslich in Wasser zu 0.5%.

## 3,5-Dioxy-4-methoxybenzoesäure-propylester (1).



Eine Lösung von 9 g methylierter Säure in 50 ccm *n*-Propylalkohol wurde mit HCl-Gas gesättigt, 10 Stunden erhitzt und weiter wie beim Protokatechusäuremethylester behandelt. Das Rohprodukt (Rohausbeute 62%) kristallisierten wir aus verdünntem Alkohol um.

Schmp. 99°. Löslich in Wasser zu 0.3%, leicht löslich in Alkohol, Äther, Chloroform, Benzol.

Aus 0.3928 g Sbst.

$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_5$  (226.11). Ber.: C 58.38, H 6.24.

Gef.: C 58.34, H 6.27.

## Ermittlung der antimikrobischen Wirkung.

Wegen der teilweise nur geringen Verschiedenheit der Struktur der auf ihre antimikrobische Wirkung zu prüfenden Verbindungen waren zum Teil auch nur geringe Unterschiede in den Wirkungsgraden zu erwarten. Bei den üblichen Verfahren der Bestimmung der antimikrobischen Wirkung gegen Bakterien durch die Abtötung nach der Keimträgermethode oder durch die Entwicklungsverhinderung in Nährmedien können so geringe Unterschiede infolge der un-

<sup>54)</sup> Ber. Dtsch. Chem. Ges. 36, 216, 660 (1903).

vermeidlichen Streuungen eventuell entgehen. Deshalb sahen wir von Versuchen mit Bakterien ab und prüften die Wirkung der Substanzen in reiner Zuckerlösung gegenüber Hefe unter festgelegten Bedingungen, wobei wir eine reine, einheitliche Hefe von stetiger Resistenz benutzten und diese genau wogen. Nach unserer Erfahrung ist so der genau gleiche Wirkungsgrad besser reproduzierbar als bei den Versuchen der Entwicklungsverhinderung oder Abtötung von Bakterien. Dies kann teils durch das Vorliegen von ziemlich übereinstimmenden Mengen der Mikroorganismen, die ja genau gewogen werden, teils durch die gleichmäßige Lebensintensität und Resistenz der benutzten Hefe, teils durch die Ausschaltung der störenden Reaktion der zu prüfenden Stoffe mit Bestandteilen des Nährmediums oder durch die Ausschaltung ihrer störenden Adsorption an die Keimträger bewirkt sein. Es stimmen auch die so gefundenen Wirkungsgrade meist mit den bei anderer Methodik, z. B. bei der Ermittlung der abtötenden Wirkung nach der Läppchenmethode erhaltenen Wirkungsgraden ziemlich gut überein, so weit das eben bei der Verschiedenheit der Methoden und der Mikroorganismen überhaupt möglich ist.

Es war festzustellen, welche geringste Konzentration der Stoffe die Gärung unter den gewählten Bedingungen gerade vollkommen verhindert. Zu den Versuchen diente obergärrige Brennereihefe, Rasse M, vom Institut für Gärungsgewerbe, Berlin. Zunächst gingen wir — so weit die Stoffe relativ schwer löslich waren — von ihren möglichen höchsten Konzentrationen aus, die wir in verschiedenem Maße verdünnten, um so der gärungsverhindernden geringsten Konzentration näher zu kommen. Durch Versuche mit kleineren Konzentrationsunterschieden wurde dann diese Konzentration genauer ermittelt. Neben dem zu prüfenden Stoff enthielten 10 ccm Lösung jeweils noch 0.08 g Traubenzucker und 0.04 g Hefe. Die mit der genau gewogenen Hefe gut angeriebenen 10 ccm Gärgemisch gaben wir in Einhornsche Gärröhrchen und beobachteten ihr Verhalten bei 37° 24 Stunden lang. Zunächst stellten wir in kürzeren Zeitabschnitten die Kohlensäureentwicklung fest, wobei schon Anhaltspunkte für die Wirkungsunterschiede zu gewinnen waren. Die endgültige Feststellung der Wirkung geschah nach 24 Stunden, wobei die geringste Konzentration der Stoffe ermittelt wurde, welche während dieser Zeit jede sichtbare Kohlensäureentwicklung gerade verhindern konnte. Zum Vergleich der Wirkung und zugleich zur Kontrolle der Lebensintensität und Resistenz der angewandten Hefe führten wir gleichzeitig Gärversuche unter Zusatz verschiedener Phenolmengen aus. Bei Anwendung von 0.04 g Hefe in 10 ccm Gärgemisch verhinderte Phenol die Gärung in der Konzentration von 0.35%, bei Anwendung von 0.1 g Hefe in der Konzentration von 0.45%.

Wenn auch bei der konzentriertesten Lösung wegen der zu geringen Löslichkeit des Stoffes in Wasser noch eine Gärung stattfand, benutzten wir als Lösungsmittel ein Gemisch von 1 Vol. Glycerin und 9 Vol. Wasser; besonders war festgestellt, daß dieses Gemisch von sich aus die Gärung nicht störend beeinflusst. Die Vergleichsversuche mit Phenol wurden stets mit denselben Lösungsmitteln ausgeführt. Der Glycerinzusatz steigert die Löslichkeit der Stoffe in

dem Gärgemisch, er hatte höchstens eine sehr geringe Abschwächung der Wirkung der Stoffe auf die Hefe zur Folge, was durch die verschiedenen Verteilungskoeffizienten der Stoffe zwischen Hefezelle und Wasser einerseits und Hefezelle und Glycerin-Wasser-Gemisch andererseits sich genügend erklären läßt.

## Die Quotienten

$$\frac{\text{gärungsverhindernde Mindestkonzentration des Phenols}}{\text{gärungsverhindernde Mindestkonzentration der Substanz}}$$

bezeichnen wir als Wirkungsgrade, wobei die Konzentrationen in Mol ausgedrückt werden. Der Wirkungsgrad des Phenols ist 1. In Tab. 1 sind die so gefundenen Wirkungsgrade berichtet. Tab. 2 betrifft die Stoffe, welche auch in den unter den Versuchsbedingungen möglichen Höchstkonzentrationen die Gärung noch verhindern konnten. Hier wird, um überhaupt Anhaltspunkte zu gewinnen, der Quotient mit der angewandten Höchstkonzentration berechnet; die so erhaltenen Werte lassen nur erkennen, daß der tatsächliche Wirkungsgrad kleiner sein muß als diese Werte, den tatsächlichen Wirkungsgrad selbst geben sie nicht an. Soweit wir die in den Tab. 1 und 2 berichteten Werte durch Versuche unter Zusatz von Glycerin erzielten, sind sie durch „G“ gekennzeichnet.

Tab. 1.

1. Phlorogluzin	0,1
2. Pyrogallol	0,6
3. Oxyhydrochinon	0,6
4. 3,5-Dioxy-4-methoxybenzoesäure (1)	0,6
5. $\alpha$ -Resorzylsäure	0,7
6. Isovanillin	0,7 G
7. Guajakol	0,7
8. Brenzkatechin	0,8
9. Hydrochinon	0,8
10. Protokatechusäure	0,8
11. Resorzin	0,9
12. Phenol	1,0
13. Resorzin-monomethyläther	1,0
14. Vanillin	1,2
15. Gentisin-Säure	1,4
16. Protokatechusäure-methylester	1,4
17. Vanillinsäure-methylester	1,7 G
18. Gentisinsäure-methylester	2,1
19. Phlorogluzin-karbonsäure-methylester	2,7 G
20. Gallussäure-n-propylester	2,9
21. Vanillinsäure	3,1
22. Brenzkatechin-o-karbonsäure	3,8
23. $\gamma$ -Resorzylsäure	3,8
24. $\beta$ -Resorzylsäure	3,8
25. 3,5-Dioxy-4-methoxybenzoesäure-n-propylester (1)	4,2
26. $\alpha$ -Resorzylsäure-n-propylester	6,1
27. Eugenol	6,1
28. 2-Oxy-4-methoxybenzoesäure (1)	6,3
29. Veratrumssäure	6,8
30. Vanillinsäure-äthylester	7,3

31. Gentisinsäure- <i>n</i> -propylester . . . . .	7,3
32. Gallussäure- <i>n</i> -butylester . . . . .	7,6
33. Protokatechusäure- <i>n</i> -propylester . . . . .	8,1
34. Vanillinsäure- <i>n</i> -propylester . . . . .	10,4
35. $\beta$ -Resorzylsäure-äthylester . . . . .	13,6
36. $\gamma$ -Resorzylsäure- <i>n</i> -propylester . . . . .	18,2
37. Vanillinsäure- <i>n</i> -butylester . . . . .	33,4 G
38. Vanillinsäure-benzylester . . . . .	48,0 G
39. $\beta$ -Resorzylsäure- <i>n</i> -propylester . . . . .	48,7
40. 4-Hexylresorzin (1,3) . . . . .	72,2
41. 5-Hexyl-2,4-dioxybenzoesäure (1) . . . . .	88,6 G

Tab. 2.

1. Gallussäure . . . . .	< 0,5
2. Gallussäure-methylester . . . . .	< 0,6
3. Veratrumaldehyd . . . . .	< 0,9 G
4. 2,4,6-Trioxybenzoesäure (1) . . . . .	< 1,0
5. Veratrumssäure-methylester . . . . .	< 7,3 G
6. Vanillinsäure-isopropylester . . . . .	< 11,2 G
7. 2-Oxy-4-methoxybenzoesäure- <i>n</i> -propylester (1) . . . . .	< 26,1 G
8. 2, 4, 6-Trioxy-3,5-dimethylbenzoesäure-methylester (1) . . . . .	< 26,1 G
9. Veratrumssäure- <i>n</i> -propylester . . . . .	< 278
10. 5-Hexyl-2,4-dioxybenzoesäure-methylester (1) . . . . .	< 357 G

## 425. B. Bleyer, F. Schlemmer und W. Müller-Parcham:

## Neue Bewertungs-Merkmale für den Lebertran.

Eingegangen am 12. August 1931.

(Mitteilung aus dem Institut für Pharmazeutische und Lebensmittelchemie der Universität München.)

Aus zahlreichen Untersuchungen der letzten Jahre ist bekannt, daß guter Lebertran in verhältnismäßig großen Mengen zwei fettlösliche Vitamine enthält, nämlich das antixerophthalmische bzw. wachstumsfördernde Vitamin (Faktor A) und das antirachitische Vitamin (Faktor D), die beide, namentlich in der ersten Lebensperiode, für das normale Wachstum und die Entwicklung des Körpers notwendig sind und die hauptsächlich den therapeutischen Wert des Lebertranes bedingen. Vor dieser Erkenntnis schrieb man die Wirksamkeit anfänglich dem geringen Jod- oder Phosphorgehalt des Tranes zu; auch den Gallenstoffen der wenig gereinigten Naturtrane maß man Bedeutung bei, und als französische Forscher im Lebertran gelegentlich alkaloidähnliche, durch Eiweißfäulnis entstehende Stoffe fanden, richtete sich die Aufmerksamkeit auch eine Zeitlang auf diese. Infolge der Sonderstellung, die der Tran in chemischer Hinsicht unter den Ölen einnimmt, indem er außer den gewöhnlichen Fettarten eigentümliche, stark ungesättigte Fettsäuren enthält, die sich dadurch auszeichnen, daß sie mit großer Leichtigkeit oxydiert werden und daß sie besonders leicht feine Emulsionen bilden, kam