

Benzoessäure und Propylester gehen aus wässriger Lösung größtenteils in Äther über oder an die Kohle, die Natriumsalze der beiden Säuren geben nichts an Äther ab und werden schlecht adsorbiert, Propylester-Na gibt einen erheblichen Propylesteranteil an Äther ab, ebenso an die Kohle. Dieses verschiedene physikalische Verhalten der Na-Verbindungen der Säuren und der *p*-Oxybenzoessäure-ester macht die auffallende Verschiedenheit der Wirkung der Na-Verbindungen auf Mikroorganismen nunmehr leicht verständlich. Das verschiedene Verhalten der Alkaliverbindungen der Säuren und der Ester in diesen beiden Fällen steht auch in Übereinstimmung mit der chemischen Verschiedenheit dieser Stoffe, von denen die einen Salze, die anderen aber Phenolate sind. Wenn auch die Phenolate sich von den praktisch neutralen Salzen durch ihre alkalische Reaktion unterscheiden, so läßt sich die hier gefundene Wirkung des Propylester-Na doch nicht durch einen gegenüber den Salzlösungen höheren pH der benutzten Propylester-Na-Lösung erklären; dies ergibt sich schon zur Genüge aus der von Th. Sabalitschka⁹⁾ beobachteten Wirkungslosigkeit reiner NaOH-Lösung wesentlicher höherer Konzentration.

Die starke Wirkung der Alkaliverbindungen der *p*-Oxybenzoessäure-ester auf Mikroorganismen dürfte deshalb für die praktische Konservierung und Desinfektion von besonderer Bedeutung sein, da diese Alkaliverbindungen in Wasser sehr leicht löslich sind, also ihre Handhabung sehr bequem ist.

318. Th. Sabalitschka:

Synthetische Studien über die Beziehung zwischen chemischer Konstitution und Wirkung auf Mikroorganismen VIII¹⁾).

Mit F. L. Schweitzer: Glucoside der einfachen und chlorierten Paraoxybenzoessäure und ihrer Ester.

Eingegangen am 14. August 1929.

Die bereits mitgeteilten Versuche zeigten, daß im Gegensatz zu den sich auf die Untersuchungen von H. Kolbe²⁾ und C. Wehmer³⁾ stützenden Literaturangaben die *p*-Oxybenzoessäure gegenüber Mikroorganismen nicht wirkungslos ist; außerdem wurde erkannt, daß durch die Veresterung karbozyklischer Säuren die den Säuren an sich zukommende Wirkung auf Mikroorganismen keines-

⁹⁾ Desinfektion 11, Heft 7/10 (1926).

¹⁾ Mitt. I: Pharmaz. Monatsh. 5, 235 (1924); II: Pharmaz. Ztg. 71, 834 (1926); III: Desinfektion 11, Heft 7 bis 10 (1926); IV: Schweiz. Aph. Ztg. 65, 169 (1927); V: Apoth. Ztg. 43, 670 (1928); VI: Pharmac. Acta Helv. 3, 103 (1928); VII: Arch. Pharmaz. u. Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges. 1929, 272.

²⁾ Journ. prakt. Chem. 10, 109 (1874); ebenda 11, 9 (1875).

³⁾ Chem. Ztg. 21, 73 (1897).

wegs immer aufgehoben wird, wie nach den Beobachtungen von H. Kolbe⁴⁾ bei Salizylsäure und ihrem Methylester anzunehmen war, sondern sogar verstärkt werden kann, und daß die Wirkung mit der Größe des in die Säure eingeführten Esteralkyls ansteigt. In gleicher Weise läßt sich die Wirkung gegenüber Mikroorganismen durch Verätherung der phenolischen Hydroxylgruppe von Phenolkarbonsäuren und ihren Estern steigern. Besonderes Interesse bot der Einfluß der acetalartigen Verätherung der phenolischen Hydroxylgruppe mit Glucose, also der Überführung in das Glucosid auf die Wirkung gegenüber Mikroorganismen.

Meist besteht die Ansicht, daß bei Überführung eines Alkohols oder Phenols in das Glucosid die biologische Wirkung ansteigt. C. M a n n i c h⁵⁾ wies bereits nach, daß diese Ansicht für die Wirkung des Morphins und seines Glucosides am Menschen nicht zutrifft, vielmehr wirkt das Glucosid nur entsprechend seinem Morphingehalt, was durch eine rasche hydrolytische Spaltung des Glucosids im Körper zu erklären ist. P. K a r r e r⁶⁾ fand auch beim Dihydrocuprein keine Veränderung der chemisch-therapeutischen Eigenschaften durch die Einführung des Glucoseresites. Daß die Phenolglucoside für den Menschen weniger giftig sind als die Phenole, deutet die im menschlichen Körper zwecks Entgiftung stattfindende Überführung der Phenole in den β -Glucosiden analog gebaute gepaarte Phenolglucuronsäuren an. E. G l a s e r und W. W u l w e k⁷⁾ fanden eine vollkommene Aufhebung der Giftwirkung von Nitrophenolen auf das Ferment Pepsin bei ihrer Überführung in die Glucoside. Auch die Giftwirkung der Nitrophenole, ebenso von *m*-Nitrokresol auf Mikroorganismen wird nach E. G l a s e r und Mitarbeitern⁸⁾ durch die Überführung in Glucoside aufgehoben. Damit soll aber nicht gesagt sein, daß die Wirkung im Körper der höher organisierten Lebewesen mit der Wirkung auf Mikroorganismen unbedingt parallel gehen muß, ist doch z. B. von dem einen von uns (Sab.) für die beiden Wirkungen bei den homologen Estern der *p*-Oxybenzoesäure ein entgegengesetztes Verhalten festgestellt.

Hier war der Einfluß der Glucosidverätherung auf die bakterizide Wirkung bei einfacher und chlorierter *p*-Oxybenzoesäure und deren Methylestern zu ermitteln. Dabei war dieser Einfluß an sich zu prüfen, ferner zu untersuchen, ob das früher bei der *p*-Oxybenzoesäure und ihren Estern beobachtete Ansteigen der Wirkung von der chlorefreien Verbindung zur chlorierten bei den Glucosiden dieser Verbindungen in ähnlicher Weise wieder zu finden ist.

Die Synthese der Glucoside geschah gemäß E. F i s c h e r aus Azetobromglucose. Auf diese Weise war bereits F. M a u t h n e r⁹⁾ die Synthese des *p*-Oxybenzoesäuremethylestertetrazetylglucosids gelungen, indem er eine ätherische Lösung von Azetobromglucose mit

4) Journ. prakt. Chem. I. c.

5) LIEBIGS Ann. 394, 223 (1912).

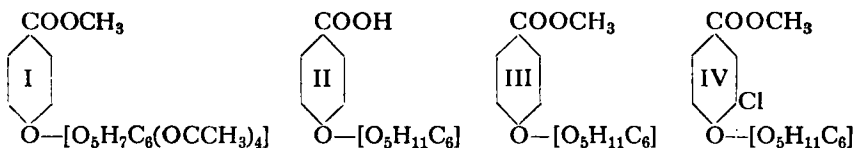
6) Ber. Dtsch. Chem. Ges. 49, 1644 (1916).

7) Biochem. Ztschr. 145, 514 (1924).

8) Biochem. Ztschr. 137, 429 (1923); ebenda 145, 514 (1924).

9) Journ. prakt. Chem. 83, 559 (1911).

einer Lösung des Esters in Lauge schüttelte; die Ausbeute war dabei nur gering. Wir konnten durch Arbeiten in homogenem System, nämlich in Azetonwassergemisch, die Ausbeute erheblich steigern, auch F. M a u t h n e r ¹⁰⁾ fand diese Arbeitsweise bei späteren Synthesen anderer Glucoside geeigneter. Da wir eine einfache Methode zur Herstellung der reinen Phenolate der Phenolkarbonsäureester ermittelten, gingen wir direkt von den Phenolaten aus, die wir in wenig Wasser lösten und zur Lösung der Azetobromglucose in Azeton gaben. Aus den so erhaltenen Tetrazetylglucosiden (I) spalteten wir durch Verseifen mit Barytlauge die Azetylgruppen ab, wobei zugleich die Phenolkarbonsäureester zerlegt wurden, wir also die Glucosidsäuren erhielten (II). Mit Diazomethan gelang die nachträgliche Überführung in die Methylester (III). So erhielten wir das Glucosid der *p*-Oxybenzoesäure (II) und ihres Methylesters (III) und der 3-Chlor-4-oxybenzoesäure und ihres Methylesters (IV). Durch die Spaltung mit Emulsin ließ sich für die Glucoside die zu erwartende β -Konfiguration nachweisen.



Der 3,5-Dichlor-4-oxybenzoesäuremethylester gab mit Azetobromglucose nur mehr eine geringe Ausbeute an Tetrazetylglucosid. Auch bei der beabsichtigten Abspaltung der Azetylgruppen mit Barytlauge verhielt sich dieses Tetrazetylglucosid verschieden von dem chlorfreien und dem monochlorsubstituierten, indem hier durch Barytlauge auch die Glucose abgespalten wurde. Dieselbe Beobachtung machten E. F i s c h e r und H. S t r a u ß ¹¹⁾ beim Verseifen des Tetrazetylglucosids von 2,4,6-Tribromphenol. Je mehr der mit dem Zucker verbundene Rest azylartigen Charakter hat, um so eher findet die Abspaltung des Zuckers statt. Es gelang aber die Abspaltung der Azetylgruppen unter Erhaltung der Glucoseverbindung mit methylalkoholischem Ammoniak. Allerdings reagierte dieses Verseifungsmittel auch mit der veresterten Carboxylgruppe, wir erhielten das Amid des Glucosids (V). Dieses Amid ließ sich nicht in die entsprechende Säure überführen, ohne daß dabei die Glucose abgespalten wurde.

Da wir auch den Einfluß der Veresterung mit Glucose auf die bakterizide Wirkung prüfen wollten, bereiteten wir nach P. K a r r e r ¹²⁾ zuerst aus dem Silbersalz der Säure und Azetobromglucose den Tetrazetylglucosester (VI), den schon P. K a r r e r ¹³⁾ beschrieb. Auch hier war eine nebenhergehende Bildung von *p*-Oxy-

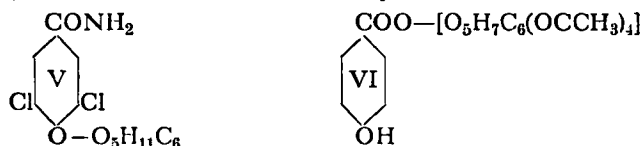
¹⁰⁾ Journ. prakt. Chem. 88, 766 (1913).

¹¹⁾ Ber. Dtsch. Chem. Ges. 45, 2467 (1912).

¹²⁾ Ber. Dtsch. Chem. Ges. 50, 883 (1917).

¹³⁾ Helv. chim. Acta 4, 130; Chem. Ztrbl. 1921, III, 878.

benzoesäuretetrazetylglucosid, die P. Karrer¹⁴⁾ unter denselben Bedingungen beim Silbersalz der *o*-Oxybenzoesäure feststellte, nicht



zu beobachten. Nicht gelang die Abspaltung der Azetylgruppen aus dem *p*-Oxybenzoesäureglucoseester, ohne daß dabei der Glucoseester verseift wurde. Bei ähnlichen Verbindungen konnte auch P. Karrer¹⁵⁾ nicht durch ausschließliche Verseifung an den Azetylgruppen zu dem azetylfreien Glucosid kommen, K. Josephson¹⁶⁾ beschrieb ebenfalls nur Tetrazetylglucoseester von Phenolkarbonsäuren. Beim Silbersalz der 3-Chlor-4-oxybenzoesäure erhielten wir überhaupt keinen Tetrazetylglucoseester mehr. Da azetylfreie Glucoseester nicht herstellbar waren, kann über den Einfluß der Veresterung mit Glucose auf die bakterizide Wirkung nichts gesagt werden.

Die Verätherung mit Glucose beeinflusste die bakterizide Wirkung folgendermaßen: sowohl bei der *p*-Oxybenzoesäure wie auch bei ihrem Methylester wurde die bakterizide Wirkung durch die Umwandlung in das Glucosid praktisch nicht verändert. Im Gegensatz dazu sank die an sich sehr starke bakterizide Wirkung der 3-Chlor-4-oxybenzoesäure bei der Glucosidverätherung auf ungefähr ein Neuntel; immerhin war dieses Glucosid noch stärker wirksam als die beiden ersteren Glucoside, so daß die Reihenfolge der Wirksamkeit für die Glucoside und die ihnen zugrunde liegende Phenole noch dieselbe ist. Die bakterizide Wirkung des Glucosids des 3-Chlor-4-oxybenzoesäuremethylesters war wegen dessen geringer Löslichkeit in Wasser überhaupt nicht feststellbar.

Die Überführung eines an sich bakteriziden Stoffes in sein Glucosid kann gemäß den Versuchen von E. Glaser und Mitarbeitern die bakterizide Wirkung gänzlich aufheben, nach diesen Versuchen nur abschwächen oder auch nicht merklich verändern. Es ist danach zu erwarten, daß die Überführung in das Glucosid mitunter auch eine Steigerung der bakteriziden Wirkung bedingen kann. Bei der Wirkung gegenüber Mikroorganismen ist man zu allgemeinen Schlüssen für die Veränderung der Wirkung durch Überführung in ein Glucosid ebensowenig berechtigt wie bei der Wirkung auf höhere Organismen.

Beschreibung der Versuche.

Die Glucoside wurden nach E. Fischer¹⁷⁾ mit Hilfe von β -Tetrazetylglucose gewonnen. Die gemäß E. Fischer¹⁸⁾ aus

¹⁴⁾ Ber. Dtsch. Chem. Ges. 50, 883 (1917).

¹⁵⁾ Ber. Dtsch. Chem. Ges. 50, 883 (1917).

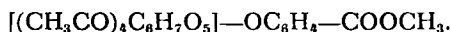
¹⁶⁾ Arkiv för Kemi, Min. och Geol. 9, Nr. 36, 1; Chem. Ztrbl. 1927, I, 1444.

¹⁷⁾ Ber. Dtsch. Chem. Ges. 34, 2885 (1901); 42, 1465 (1909); 45, 2467 (1912); 47, 210, 1377 (1914); 49, 2813 (1916); 50, 711 (1917).

¹⁸⁾ Ebenda 49, 584 (1916).

der eingeengten Chloroformlösung durch Fällen mit Petroläther oder besser mit Benzin erhaltene β -Tetrazetylglucose ist nach zweimaligem Auswaschen mit Petroläther oder Benzin und jedesmaligem scharfen Absaugen des Lösungsmittels bei sorgfältigem Arbeiten farblos und im Vakuumexsikkator über Natriumhydroxyd und Kalziumchlorid gut haltbar; das von E. Fischer empfohlene Umkristallisieren aus Amylalkohol verschlechtert nach unseren Erfahrungen die Haltbarkeit. Meist benutzten wir daher die Azetobromglucose direkt, also ohne sie nochmals umzukristallisieren. Traten bei sehr langer Aufbewahrung doch gelbe Flecken auf oder war ein besonderer Reinheitsgrad geboten, dann kristallisierten wir gemäß P. Karrer¹⁹⁾ aus Äther um.

p - β -Tetrazetyl- d -glucosido-oxybenzoesäure-
methylester



E. Mauthner²⁰⁾ erhielt diese Verbindung bereits durch 24stündiges Schütteln einer wässrigen Lösung von 1 Mol p -Oxybenzoesäuremethylester und $1\frac{1}{2}$ Mol NaOH mit einer ätherischen Lösung von ungefähr $\frac{3}{4}$ Mol Azetobromglucose. Wir arbeiteten zuerst ebenfalls nach diesem Verfahren; da es aber nur die geringe Ausbeute von 5% lieferte, gingen wir zu folgender Arbeitsweise über: Als Ausgangsmaterial diente festes Natriumphenolat des Paraoxybenzoesäuremethylesters, dessen einfache Darstellung am Schluß beschrieben ist, als Lösungsmittel diente Azeton. Phenolat und Azetobromglucose wurden in molekularen Mengen angewandt. Die Azetobromglucose lösten wir in der dreifachen Gewichtsmenge Azeton und setzten das Phenolat, gelöst in der zweifachen Menge seines Gewichtes Wasser, allmählich (innerhalb drei Stunden) zu, wobei wir anfangs durch Kältemischung kühl hielten. Während des Zugebens der Phenolatlösung wurde häufig umgeschüttelt. Nach zwölfstündigem Stehen war die Hauptmenge der Tetrazetylverbindung in langen farblosen Nadeln abgeschieden; nach der Filtration ließ sich der in der Lösung noch verbliebene Anteil der Verbindung durch vorsichtigen Zusatz von Wasser ausfällen. Man kann auch die Lösung der Azetobromglucose in Azeton direkt mit dem fein zerriebenen festen Na-Phenolat vier Stunden schütteln, dann durch Zusatz von wenig Wasser das restliche Phenolat lösen und durch nochmaliges einstündiges Schütteln die Umsetzung weiterführen. Nach 12stündigem Stehen des Reaktionsgemisches bei Zimmertemperatur wird dann durch vorsichtiges Zugeben von Wasser die Tetrazetylverbindung abgeschieden.

Schmelzpunkt nach Umkristallisieren aus Methylalkohol 162.5 (korr.). Ausbeute an reiner Substanz 25% der Theorie.

1.2314 g Sbst. gelöst auf 25 ccm Chloroform, 17° , 1-dm-Rohr, $\alpha = -1.18^\circ$.
 $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ in Chloroform = -24.0° .

¹⁹⁾ Ebenda 49, 1646 (1916).

²⁰⁾ Journ. prakt. Chem. 83, 559 (1911).

$p = \beta, d = \text{Glucosido-} \alpha \text{-oxybenzoesäure.}$



Diese ebenfalls von F. Mauthner²¹⁾ schon dargestellte Verbindung erhielten wir folgendermaßen: 3 g Tetrazetylverbindung werden mit 12 g $\text{Ba}(\text{OH})_2$ in 200 ccm Wasser 26 Stunden geschüttelt. Nach Abfiltrieren des geringen BaCO_3 -Anteiles und unveränderter Tetrazetylverbindung, die durch Lösen des BaCO_3 in verdünnter Säure aus dem Filtrerrückstand nachträglich zurückgewonnen wird, fällt man den $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -Überschuß durch Einleiten von CO_2 und setzt aus dem Filtrat durch Zugabe der nötigen Menge Schwefelsäure die Glucosidosäure in Freiheit. Vom ausgefallenen Bariumsulfat trennt man mit Hilfe des Schottischen Patenttiegels (für feinste Niederschläge), engt das Filtrat im Vakuum ein und überläßt es der Kristallisation.

Schmelzpunkt nach Trocknen über P_2O_5 bei 100° 213° (korr.). Ausbeute 80% der Theorie.

0.284 g Sbst. gelöst auf 25 ccm Wasser, 17° , 2-dm-Rohr, $\alpha = -1.80^\circ$.
 $[\alpha]_D^{17} = -79.2^\circ$.

$p = \beta, d = \text{Glucosido-} \alpha \text{-oxybenzoesäuremethylester.}$



Zur ziemlich konzentrierten methylalkoholischen Lösung der Glucosidosäure wurde unter Eiswasserkühlung bis zum Bleiben der Gelbfärbung eine ätherische Lösung von Diazomethan gegeben. Nach wenigen Minuten kristallisierte der Ester in farblosen filzigen Nadeln aus, die wir nach dem Absaugen mit wenig Äther nachwuschen und trockneten. Beim Arbeiten mit reinen Ausgangsmaterialien ist der Ester genügend rein, anderenfalls läßt er sich aus Essigäther umkristallisieren. Ausbeute 95% der Theorie.

Schmp. 169° (korr.). In Wasser und Azeton kalt wenig, heiß ziemlich gut löslich, in Alkohol sehr leicht löslich, in Essigäther kalt sehr wenig, heiß gut löslich, in Benzol und Toluol kalt nicht, heiß wenig, in Äther, Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Ligroin, Benzin und Petroläther nicht löslich.

0.3582 g Sbst. gelöst zu 25 ccm Wasser, 16° , 2-dm-Rohr, $\alpha = -2.24^\circ$.
 $[\alpha]_D^{16} = -78.1^\circ$.

7.535 mg Sbst.: 14.74 mg CO_2 , 3.91 mg H_2O .

$\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_8$. Ber.: C 53.48, H 5.78.

Gef.: C 53.35, H 5.81.

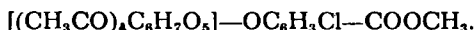
Es war zwar zu erwarten, daß obige Synthese eine Verbindung mit β -Konfiguration gab; dennoch war mit Emulsin auf diese zu prüfen. Wir bereiteten das Emulsin aus süßen Mandeln nach E. Bourquelot²²⁾. Während eine wässerige Lösung des Glucosidesters Fehlingsche Lösung nicht reduzierte, fand eine Reduktion der

²¹⁾ Journ. prakt. Chem. 83, 560 (1911).

²²⁾ Arch. Pharmaz. 245, 173 (1907).

selben nach 24stündiger Einwirkung des Emulsins bei 37° statt. Zur quantitativen Verfolgung der Spaltung durch Emulsin diente eine mit 0.03 g Emulsin und einem Tropfen Toluol versetzte Lösung von 0.300 g Glucosidoester auf 25 ccm Wasser; α im 2-dm-Rohr betrug für die frisch bereitete Lösung -1.86° , nach zweitägigem Stehen bei 37° betrug es $+0.68^\circ$, was einer praktisch vollkommenen Spaltung des Glucosidoesters durch das Emulsin entspricht (ber. $+0.72^\circ$ für eine reine 0.172%ige Glucoselösung).

3-Cl-4- β -Tetrazetyl-d-glucosido-oxybenzoesäuremethylester.



Auch hier gab das von Maithner für die chlorfreie Verbindung angegebene und bei dieser erwähnte Verfahren eine Ausbeute von nur 7% der Theorie. Wir erzielten eine 30%ige Ausbeute folgendermaßen: zu einer Lösung von 1 Mol. Azetobromglucose in der dreifachen Gewichtsmenge Azeton wird gemäß den bei der chlorfreien Verbindung weiter oben gemachten Angaben eine konzentrierte wässrige Lösung von $1\frac{1}{4}$ Mol. Na-Phenolat des 3-Chlor-4-oxybenzoesäuremethylesters gegeben. Nach 12stündigem Stehen des Reaktionsgemisches werden die abgeschiedenen farblosen Kristalle abgesaugt, nach weiteren 12 Stunden die bis dahin neu abgeschiedenen; das Einengen des azetonhaltigen Filtrats liefert noch weitere Kristalle. Die vereinigten Kristallisationen kristallisiert man aus Methylalkohol um, wäscht mit Äther nach und trocknet im Vakuumexsikkator.

Schmp. 137.5° (korr.). In Wasser und Äther sehr wenig löslich, leicht in Chloroform, Azeton und noch leichter in Benzol; in Alkohol heiß reichlich, in Benzin, Ligroin und Petroläther nicht, in Tetrachlorkohlenstoff und Schwefelkohlenstoff in der Wärme etwas löslich.

1.2533 g Sbst. gelöst auf 25 ccm Chloroform, 17° , 1-dm-Rohr, $\alpha = -2.25^\circ$. $[\alpha]_D^{17} = -44.9^\circ$.

9.370 mg Sbst.: 17.50 mg CO_2 , 4.052 mg H_2O . — 9.977 mg Sbst.: 2.78 mg AgCl.

$\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{O}_{12}\text{Cl}$. Ber.: C 51.09, H 4.88, Cl 6.87.
Gef.: C 50.94, H 4.84, Cl 6.89.

3-Cl-4- β , d-Glucosido-oxybenzoesäure.



3 g der Tetrazetylverbindung schüttelten wir mit 250 ccm kalt gesättigter Barytlauge 30 Stunden und saugten hierauf von dem in geringer Menge ausgefallenen BaCO_3 und dem unverändert gebliebenen Anteil der Tetrazetylverbindung (etwa 12% der angewandten Menge) ab. Den unveränderten Anteil gewannen wir analog den bei der chlorfreien Verbindung gemachten Angaben wieder zurück. Das Filtrat verarbeiteten wir ebenfalls gemäß den dortigen Angaben. Das nach Ausfällung des gesamten Ba zuletzt erhaltene Filtrat wurde im Vakuum bei 40° eingeeengt, bis sich die

Glucosidosäure als lange, farblose, zu Büscheln angeordnete Nadeln ausschied; Kühlung mit Eiswasser förderte dann die Kristallisation. Weiteres Einengen des Filtrats und nachheriges Kühlen gab eine zweite Kristallisation. Nach dem Trocknen der Kristalle behandelten wir sie mit Äther und kristallisierten sodann aus wenig Wasser um.

Schmelzpunkt nach Trocknen bei 100° über P_2O_5 183° (korr.); beim Schmelzen findet Zersetzung statt. Ausbeute 73% der Theorie. Das Glucosid schmeckt stark sauer. In Wasser kalt wenig, heiß sehr leicht löslich, in Azeton schwer, in Alkohol gut, in Äther, Chloroform, Benzol, Benzin, Ligroin, Petroläther und Essigäther nicht löslich.

0.3006 g Sbst. gelöst zu 25 ccm Wasser, 17°, 2 dm-Rohr, $\alpha = -1.70^\circ$.
 $[\alpha]_D^{17} = -70.7^\circ$.

6.348 mg Sbst.: 10.81 mg CO_2 , 2.55 mg H_2O . — 12.383 mg Sbst.: 5.285 mg AgCl.

$C_{13}H_{15}O_8Cl$. Ber.: C 46.62, H 4.52, Cl 10.61.
 Gef.: C 46.44, H 4.50, Cl 10.56.

3:Cl = 4:β, d = Glucosido-oxybenzoesäuremethylester.

$[C_6H_{11}O_5] - OC_6H_5Cl - COOCH_3$.

Diesen Glucosidoester bereiteten wir ebenso wie den chlorfreien Glucosidoester. Die aus der Methylalkoholäthermischung sich abscheidenden farblosen Kristalle wurden im Trockenschrank getrocknet, dann mit Äther gut ausgewaschen und nochmals bei 110° getrocknet. Das so erhaltene Produkt ist meist genügend rein, es läßt sich andernfalls durch Umkristallisieren aus Wasser weiterreinigen. Ausbeute: 93% der Theorie.

Schmp. 214.5° (korr.). In kaltem Wasser nur wenig löslich, wesentlich leichter in heißem, in Alkohol sehr leicht, in Essigäther sehr wenig, in Azeton kalt wenig, heiß gut, in Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Ligroin, Benzin und Petroläther nicht löslich.

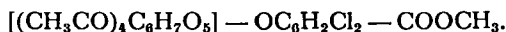
0.3033 g Sbst. gelöst zu 25 ccm Methylalkohol, 18°, 2 dm-Rohr, $\alpha = -1.22^\circ$. $[\alpha]_D^{18} = -50.3^\circ$.

7.255 mg Sbst.: 12.77 mg CO_2 , 3.17 mg H_2O . — 10.355 mg Sbst.: 4.265 mg AgCl.

$C_{14}H_{17}O_8Cl$. Ber.: C 48.20, H 4.92, Cl 10.17.
 Gef.: C 48.01, H 4.89, Cl 10.19.

Die wie beim chlorfreien Glucosidoester ausgeführte Vorprobe mit Fehlingscher Lösung ergab auch hier Spaltbarkeit durch Emulsin. Bei der quantitativen Verfolgung der Spaltung benutzten wir wegen der geringen Löslichkeit des Glucosidoesters in Wasser eine wässrige Suspension. 0.774 g Sbst., 0.05 g Emulsin und 1 Tropfen Toluol ergänzten wir mit Wasser auf 25 ccm, stellten das Gemisch 24 Stunden in den auf 37° gehaltenen Brutschrank, filtrierten hierauf und ermittelten das Drehungsvermögen des Filtrates; wir fanden im 2-dm-Rohr bei 17° eine Drehung von +1.69°, die einer praktisch vollständigen Spaltung des Glucosidoesters durch das Emulsin entspricht. (Ber. +1.68° für eine reine 0.4%ige Glucoselösung).

3,5-Dichlor-4- β -tetrazetyl-d-glucosido-oxybenzoesäuremethylester.



Versetzten wir analog den vorhergehenden Synthesen die Lösung der Azetobromglucose in Azeton mit einer konzentrierten wässerigen Lösung des Natriumphenolates des 3,5-Dichlor-4-oxybenzoesäuremethylesters, ließen drei Tage bei Zimmertemperatur stehen, saugten die inzwischen abgeschiedenen langen, farblosen Kristallnadeln ab und kristallisierten aus Methylalkohol um, so betrug die Ausbeute an reinem Glucosid 10% der Theorie.

Schmp. 112° (korr.). In kaltem Wasser nicht, in warmem wenig löslich, in Alkohol kalt wenig, warm sehr gut, in Äther sehr schwer, in Chloroform und Benzol kalt gut, warm reichlich, in Azeton und Tetrachlorkohlenstoff kalt wenig, heiß gut, in Petroläther, Benzin und Lignoïn nicht löslich.

0.8877 g Sbst. gelöst zu 10 ccm Chloroform, 18°, 1-dm-Rohr, $\alpha = -0.73^\circ$. $[\alpha]_D^{25} = -8.2^\circ$.

7.498 mg Sbst.: 13.13 mg CO_2 , 3.022 mg H_2O . — 11.385 mg Sbst.: 5.89 mg AgCl.

$\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_{12}\text{Cl}_2$. Ber.: C 47.91, H 4.39, Cl 12.87.
Gef.: C 47.76, H 4.51, Cl 12.80.

3,5-Dichlor-4- β -d-glucosido-oxybenzoesäureamid.



4.3 g Tetrazetylglucosid wurde in 100 ccm frisch destilliertem Methylalkohol unter Erwärmen gelöst. Beim Einstellen der Lösung in eine Kältemischung schied sich ein Teil des Glucosids wieder ab. Unter wiederholtem Schütteln leiteten wir durch die Lösung 1 Stunde gut getrocknetes Ammoniakgas, wobei der vorher ausgeschiedene Glucosidanteil wieder in Lösung ging. Die Lösung verblieb noch mehrere Stunden im Kältegemisch, dann weitere 24 Stunden im Eisschrank. Beim starken Einengen im Vakuum bei 30° schieden sich farblose Kristallnadeln ab, die wir nach dem Absaugen zur Entfernung des Azetamids zweimal mit der zehnfachen Menge Essigäther auskochten, wobei wir erst nach dem Erkalten absaugten. Das eventuell noch unverseifte Ausgangsmaterial beseitigten wir durch nochmaliges Kochen mit Chloroform und trockneten dann im Vakuumexsikkator. Das Amid läßt sich aus Wasser umkristallisieren. Die Ausbeute betrug 90% der Theorie.

0.3666 g Amid verseiften wir mit Lauge und fingen das entwickelte NH_3 in 30 ccm n_{10} Salzsäure auf; zur Neutralisation der vorgelegten Säure benötigten wir 20.05 ccm n_{10} Lauge, Differenz 9.95 ccm (ber.: 9.96 ccm).

Schmelzpunkt war nicht festzustellen, da das Amid sich bei ungefähr 150° zersetzte, ohne vorher zu schmelzen; die Zersetzungstemperatur hängt von der Schnelligkeit des Erhitzens ab. In Wasser, Azeton und Alkohol kalt sehr wenig, heiß besser löslich, in anderen Lösungsmitteln sehr schwer löslich.

Das Drehungsvermögen war nicht bestimmbar, da das Amid in den anzuwendenden Lösungsmitteln nur sehr wenig löslich ist und das Drehungsvermögen nur gering sein dürfte; wir konnten bei einer 0.7%igen Lösung des Amids in Methylalkohol im 2-dm-Rohr eine Drehung nicht beobachten.

8.135 mg Sbst.: 12.6 mg CO₂, 3.021 mg H₂O. — 13.38 mg Sbst.: 10.43 mg AgCl.

C₁₃H₁₅O₇NCl₂. Ber.: C 42.40, H 4.11, Cl 19.27.
Gef.: C 42.24, H 4.16, Cl 19.28.

Alkali-Phenolate der *p*-Oxybenzoesäureester.

Zuerst bereiteten wir die Phenolate aus Metall-Alkoholat und Phenol. Das Alkalimetall wurde in Methylalkohol gelöst und die warme Lösung mit der äquivalenten Phenolmenge versetzt. Beim Eindunsten dieser Lösung erhält man das Phenolat. Man kann auch von vornherein einen kleinen Überschuß an Phenol zugeben und diesen dann aus dem Phenolat durch nachträgliche Extraktion mit Äther wieder entfernen. Dieses Verfahren führt nicht immer zu genügend einheitlichen Produkten, so nicht bei Phenolen, welche verseifbare Estergruppen enthalten. Es gelang uns die bequeme Herstellung der verschiedensten derartigen Phenolate auf folgende Weise:

Wir gehen von Alkalihydroxyd aus (NaOH ex. met. bzw. KOH puriss. pro anal.), das wir unter wasserfreiem Äther möglichst fein pulvern und dann in Methylalkohol konzentriert lösen. Zu dieser Lösung geben wir die Lösung des Phenols in Äther, wobei etwas mehr Phenol angewandt wird, als dem Alkali äquivalent ist. Das Phenolat wird sodann durch Äther (Petroläther oder Ligroin) ausgefällt, wobei man etwa die zehnfache Menge an Äther benötigt als Alkohol angewandt ist. Hierauf schüttelt man einige Zeit auf der Maschine, saugt das Phenolat ab und trocknet es schnell an der Luft oder bei erhöhter Temperatur. Wir erhalten so fast quantitative Ausbeuten an Phenolat. Es ist meist nicht nötig, von reinem Phenol auszugehen, da die Verunreinigungen gewöhnlich in dem Äther gelöst bleiben; nur andere Phenole und Säuren werden ebenfalls von dem Alkali gebunden.

Ermittlung der bakteriziden Wirkung.

Die bakterizide Wirkung stellten wir nach der Keimträger-Methode fest, wobei wir Batistläppchen und Staphylococcus pyogenes aureus anwandten; wir ließen wässrige Lösungen ansteigender Konzentration verschiedene Zeiten auf Staphylokokkus einwirken, wobei die Virulenz des Bakterienstammes durch gleichzeitig ausgeführte Versuche mit Phenollösungen verschiedener Konzentration jeweils geprüft wurde. So konnten wir auch das Verhältnis der zur Abtötung innerhalb gleicher Zeit benötigten Mindestkonzentration der zu prüfenden Stoffe zu der unter denselben Bedingungen abtötenden Mindestkonzentration Phenol berechnen, wobei wir die Konzentration in Mol ausdrückten. Dieses Verhältnis Mindestkonzentration an

Phenol/Mindestkonzentration an Stoff bezeichnen wir als Wirkungsgrad, der Wirkungsgrad des Phenols ist also 1.

Wir fanden als Wirkungsgrad für

Paraoxybenzoesäure	3.6
Paraoxybenzoesäureglucosid	3.0
Paraoxybenzoesäuremethylester	2.6
Paraoxybenzoesäuremethylesterglucosid	2.7
3:Cl:4-Oxybenzoesäure	37.0
3:Cl:4-Oxybenzoesäureglucosid	4.3

Mit Ausnahme des Paraoxybenzoesäuremethylesters waren alle Stoffe in Wasser gelöst. Nur der Paraoxybenzoesäuremethylester mußte, um eine Abtötung in kürzerer Zeit zu erzielen, in 20%igem Alkohol gelöst werden, die zum Vergleich herangezogene Phenollösung war hier ebenfalls mit 20%igem Alkohol bereitet (1 Vol. 96%iger Alkohol, 4 Vol. Wasser). Das Glucosid des 3:Cl:4-Oxybenzoesäuremethylesters war in Wasser so wenig löslich, daß damit eine Abtötung in kürzerer Zeit nicht mehr zu erzielen war; eine 0.17%ige Lösung tötete nicht ab bei 48stündiger Einwirkung, es war also hier der Wirkungsgrad nicht feststellbar.

Durch besondere Versuche war noch zu entscheiden, ob die bei den Glucosiden beobachtete bakterizide Wirkung auf eine fermentative Spaltung der Glucoside und Entstehung der an sich wirksamen Phenolspaltlinge zurückzuführen ist, was nach der von E. Glaser und H. Prüfer²³⁾ beim *m*-Nitrokresolglucosid beobachteten Spaltung durch Staphylokokkus möglich erschien. Wir konnten sowohl in der wässrigen Lösung, welche 24 Stunden auf die an Batistläppchen angetrockneten Staphylokokken eingewirkt hatte, wie auch in einer 24 Stunden alten, die Glucoside enthaltenden Bouillonkultur des Staphylokokkus Glucose nicht nachweisen; damit ist eine Störung unserer Prüfung der bakteriziden Wirkung der Glucoside durch die Spaltung derselben ausgeschlossen, da wir dabei ja die Abtötung je nach der Konzentration innerhalb 30 Minuten bis 4 Stunden erzielten.

319. L. Kofler, R. Fischer und H. Newesely:

Über den Nachweis von Saponinen in Arzneimitteln und Lebensmitteln.

(Aus dem Pharmakognostischen Institut der Universität Innsbruck.)

Eingegangen am 9. September 1929.

Der Nachweis kleiner Mengen Saponin in Arzneimitteln und Lebensmitteln läßt sich mit Hilfe der bisherigen Methoden nur schwierig und nicht eindeutig durchführen. Das bekannteste Verfahren ist das von Brunner-Rühle, das in mehrere Lebensmittellbücher Eingang fand. Es beruht auf der Löslichkeit der

²³⁾ Biochem. Ztschr. 137, 429 (1923).