

**104. Hiroyuki Inouye, Yoshikiyo Kanaya, und Yorihiko Murata :**  
Über die Gibbs'sche Farbreaktion. I.

(Pharmazeutisches Institut, Mediz. Fakultät, Universität Kyoto\*<sup>1</sup>)

Gibbs'sche Reagenz (3,5-Dibrom- oder -Dichlor-benzochinoniminchlorid) (I) hat seit dem Vorschlag von Gibbs<sup>1)</sup> im 1927 besonders auf dem Gebiet der Strukturchemie der Naturstoffe als Nachweisreagenz für die Phenole mit unbesetzter *para*-Stellung eine nicht geringe Rolle gespielt.

Auf der anderen Seite finden sich in der Literatur aber mehrfach Angaben über die Phenole, die trotz der besetzten *para*-Stellung eine positive Reaktion mit diesem Reagenz zeigen, so z. B. *p*-Chlorphenol, *p*-Hydroxybenzoesäure,<sup>2)</sup> einige 2-Naphthole mit der Seitenkette in 4-Stellung,<sup>3)</sup> Octopamin (*l-p*-Hydroxyphenyläthanolamin),<sup>4)</sup> und dgl.

Auch in unserem Institut fanden Tomita, *et al.*<sup>5)</sup> schon früher, dass das Pirolatin, ein in der *para*-Stellung mit der Glucosyloxy-Gruppe substituiertes Phenol, eine positive Reaktion zeigt. Inouye<sup>6)</sup> beobachtete weiter dieselbe Erscheinung bei Homoarbutin. Ausserdem berichteten Tomita und Kondo<sup>7)</sup> unlängst, dass das N,4'-Dimethylisococclaurin, das sich bei der Abspaltungsreaktion des Isotetrandrins durch Lithium in flüssigem Ammoniak erhalten liess, ebenso wie bei den obigen Substanzen eine positive Reaktion zeigt.

Wir unternahmen es nun, den Chemismus der Färbung dieser Substanzen aufzuklären und tatsächlich glückte es uns fast, unseren Zweck zu erreichen. In der vorliegenden Mitteilung möchten wir hierüber Bericht erstatten.

Nur muss man bei der Unterscheidung der Gibbs'schen Farbreaktion wohl beachten, dass die Färbung je nach den betreffenden Substanzen so verschieden und sogar manchmal so undeutlich ausfällt, dass eben dieselbe Substanz je nach dem Forscher positiv oder negativ angegeben sein kann.

King, *et al.*<sup>8)</sup> schlugen im letzten Jahre unter Heranziehung dieser Farbreaktion eine Konstitutionsformel für Jacareubin vor, wobei sie behaupteten, dass die Unterscheidung der Substanzen mit echt positiver Farbreaktion von denen mit anscheinend positiver Reaktion durch Messung des Absorptionsspektrums im Bereich von 500 bis 700 m $\mu$  möglich sei.

So haben wir zunächst die Spektren der folgenden Substanzen, die in Tabelle I angeführt sind, in dem betreffenden Bereich gemessen. Die erste Gruppe stellt die Phenole dar, die in der *para*-Stellung der OH-Gruppe die OR-Gruppe besitzen. Die Substanzen in der zweiten Gruppe sind die Phenole, die in der *para*-Stellung der OH-Gruppe

die  $\begin{matrix} \text{R} \\ | \\ -\text{C}-\text{N}-\text{R}' \\ | \\ \text{R}'' \end{matrix}$  oder  $-\text{C}=\text{N}-\text{R}$  Gruppe besitzen. Diese letzteren Substanzen wurden zur

Erwägung des Chemismus der Farbreaktion von N,4'-Dimethylisococclaurin herangezogen, wobei die Mitteilung von Ziegler und Gartler<sup>9)</sup> uns einen Wink gab. Die Substanzen

\*<sup>1</sup> Yoshida-konoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto (井上博之, 金谷允清, 村田頼彦).

1) H. D. Gibbs : J. Biol. Chem., **72**, 649(1927).

2) V. E. Davidson, J. Keane, T. J. Nolan : Sci. Proc. Roy. Dublin Soc., **23**, 143(1943).

3) H. Schmid, A. Ebnöter, M. Burger : Helv. Chim. Acta, **33**, 610(1950).

4) V. Erspamer : Nature, **169**, 375(1952).

5) M. Tomita, *et al.* : Yakugaku Zasshi, **72**, 223(1952); H. Inouye : Dieses Bulletin, **2**, 359(1954).

6) H. Inouye : *Ibid.*, **4**, 281(1956).

7) M. Tomita, Y. Kondo : Yakugku Zasshi, **77**, 1019(1957).

8) F. E. King, T. J. King, L. C. Manning : J. Chem. Soc., **1957**, 563.

9) E. Ziegler, K. Gartler : Monatsh., **80**, 759(1949).

der dritten Gruppe sind im Zusammenhang mit *p*-Chlorphenol und *p*-Hydroxybenzoesäure untersucht worden. Das Spektrum von 2-Naphtol wurde gemessen, weil es zwei entgegengesetzt lautende Berichte gibt, wonach es einmal positiv reagiere<sup>9)</sup> und einmal nicht reagiere.<sup>10)</sup>

TABELLE I.\*<sup>2</sup>

*p*-Methoxyphenol (II),\* *p*-Benzyloxyphenol (III),\* 2-Hydroxy-5-acetoxytoluol (IV),\* Homoarbutin (V),\* Pirolatin (VI),\* Vitamin E (VII), 6-Hydroxycumarin (VIII).

*p*-Hydroxybenzylamin (IX),\* N-Methyl-*p*-hydroxybenzylamin (X),\* N,N-Dimethyl-*p*-hydroxybenzylamin (XI),\* N,N,N-Trimethyl-*p*-hydroxybenzylaminhydroxyd (XII), Tetrahydrojatrorrhizin (XIII),\* N,4'-Dimethylisococclaurin (XIV),\* 4'-Methylisococclaurin (XV),\* 1-(4-Methoxybenzoyl)-6-hydroxy-7-methoxy-3,4-dihydroisochinolin (XVI), *p*-Hydroxybenzylidenanilin (XVII), *p*-Hydroxy-N-methylbenzylidenamin (XVIII), *p*-Hydroxybenzaloxim (XIX).

*p*-Chlorphenol (XX),\* *p*-Hydroxybenzoesäure (XXI),\* *p*-Hydroxybenzaldehyd (XXII), *p*-Hydroxybenzoesäuremethylester (XXIII), 2-Naphtol (XXIV).

(Die mit \* markierten Substanzen haben ihr Absorptionsmaximum bei etwa 600 m $\mu$ .)

Aus der Tabelle I ist folgendes ersichtlich :

1) Die Substanzen der ersten Gruppe zeigen im allgemeinen positive Reaktion. Nur bilden das Vitamin E (VII), welches in seinem Molekül eine Ätherring-Struktur hat, und das 6-Hydroxycumarin (VIII), welches einen Lacton-Ring besitzt, eine Ausnahme. (Natürlich reagiert das Hydrochinon, der Grundkörper der Substanzen dieser Gruppe nicht, wie die Literatur angibt. Es ist in der Tabelle I nicht aufgeführt.)

2) Die Substanzen der zweiten Gruppe reagieren auch im allgemeinen positiv mit Ausnahme des quaternären Amin, Benzaloxim und der Substanzen mit Benzylidenamin Struktur.

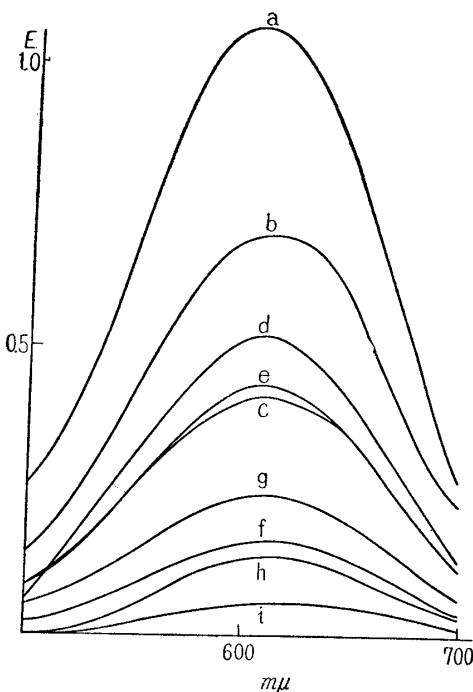


Fig. 1.

- a) Natrium Phenol-2,6-dibromindophenolat
- b) Phenol (XXV)
- c) *p*-Methoxyphenol (II)
- d) *p*-Benzyloxyphenol (III)
- e) *p*-Hydroxybenzylamin•HJ (IX)
- f) N-Methyl-*p*-hydroxybenzylamin•HCl (X)
- g) N,N-Dimethyl-*p*-hydroxybenzylamin•HCl (XI)
- h) *p*-Chlorphenol (XX)
- i) *p*-Hydroxybenzoesäure (XXI)

\*<sup>2</sup> Der Reinheit der in dieser Tabelle aufgeführten Substanzen wurde spezielle Aufmerksamkeit geschenkt. Herr T. Kikuchi von unserem Institut hatte die Freundlichkeit, uns etwas von (XII) zu überlassen. (XIV), (XV) und (XVI) wurden von Herrn Dr. H. Yamaguchi in unserem Institut hergestellt. Wir danken ihnen hierüber auch an dieser Stelle herzlichst.

10) M. Tomita, S. Uyeo : Yakugaku Zasshi, **61**, 449(1941).

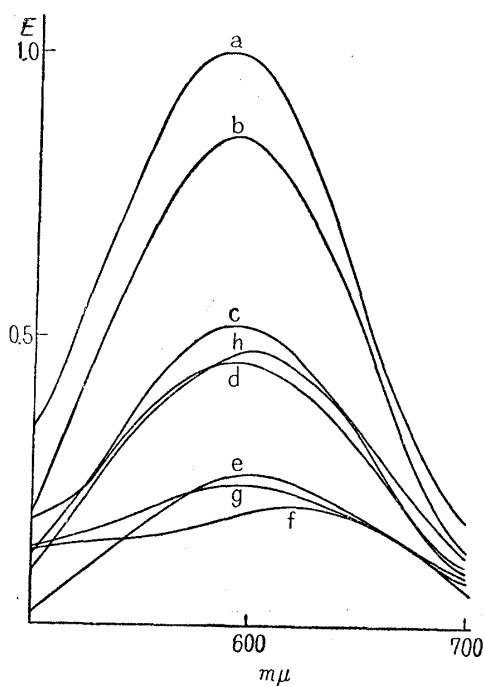


Fig. 2.

- a) Natrium 2-Methylphenol-2',6'-di-bromindophenolat
- b) *o*-Kresol (XXVII)
- c) 2-Hydroxy-5-acetoxytoluol (IV)
- d) Homoarbutin (V)
- e) Pirolatin (VI)
- f) Tetrahydrojatrorrhizin (XIII)
- g) N,4'-Dimethylisococclaurin (XIV)
- h) 4'-Methylisococclaurin (XV)

3) Von der Substanzen der dritten Gruppe reagieren nur das *p*-Chlorphenol und die *p*-Hydroxybenzoesäure.<sup>11)</sup> 2-Naphtol zeigt bei der Betrachtung mit blossem Auge eine vorübergehende Grünfärbung, lässt dagegen im gemessenen Bereich keine Absorption erkennen.

Die Spektren der Farblösungen der obigen positiv reagierenden Substanzen sind in Fig. 1 und 2 zusammengestellt, und zwar wurden in Fig. 1 die Spektren der Farblösungen jedes Phenols, welches in der *para*-Stellung mit verschiedenem Substituenten besetzt ist, zusammengestellt. Hier sind ausserdem die Spektren der Lösungen von reinem Natrium Phenolindophenolat sowie der Farblösung, die sich durch die Einwirkung vom Reagenz (I) auf Phenol (XXV) erhalten lässt, zum Kontrast aufgeführt. Diese Spektren zeigen alle bei 610 m $\mu$  das Absorptionsmaximum, was auf die Bildung des Phenolindophenols unter Abspaltung des Substituenten in der *para*-Stellung hindeutet. Hierbei dürfte die Extinktion jeder Farblösung qualitativ die Reaktionsgeschwindigkeit des betreffenden Phenols darstellen, da man bei der Darstellung der Farblösung eine bestimmte Menge Reagenz auf jedes Phenol mit derselben Konzentration einwirken liess. Auch in Fig. 2 sieht man, dass die Farblösungen der in der *para*-Stellung besetzten *o*-Kresole übereinstimmenderweise bei 590 m $\mu$  ein Absorptionsmaximum aufweisen.

Bei der Durchsicht der Literatur findet sich nun keine Angabe, dass sich der Indophenolkörper, der wesentliche Faktor der Färbung, bei der Reaktion des in *para*-Stellung besetzten Phenols mit (I) erhalten lässt. Ziegler *et al.*<sup>9)</sup> erstatteten aber Bericht, dass sie bei der Einwirkung des Chinoniminchlorids (XXVI), des Grundkörpers von (I), auf 4-Hydroxy-3,5-dimethylbenzylalkohol, 4,4'-Dihydroxy-3,5,3',5'-tetramethyldiphenylmethan sowie Tris(4-hydroxy-3,5-dimethylbenzyl)amin dasselbe 2,6-Dimethylphenol-indophenol kristallinisch erhielten. Sie berichteten weiter in derselben Mitteilung, dass das 2-Methyl-4-phthalimidomethylphenol, 2-Methyl-4,6-bis(aminomethyl)-phenol und 2-Methyl-4,6-bis-

11) Es ist schon bekannt, dass *p*-Hydroxybenzoesäure auch bei der Kupplungsreaktion mit dem Diazoniumsalz unter der Abspaltung von CO<sub>2</sub>H reagiert, das entsprechende Aldehyd (XXII) dagegen nicht (Vgl. G. Zigeuner, E. Ziegler: *Monatsh.*, 80, 359(1949)). Hieraus kann man auch das analoge Verhalten der Kupplungsreaktion des Diazoniumsalze mit der Indophenolbildung erkennen.

(chloracetamidomethyl)-phenol auch durch (XXVI) Färbung zeigen.

Gierer teilte ferner mit, dass ausser den Substanzen vom *p*-Hydroxybenzylalkohol-\*<sup>3</sup> und *p,p'*-Dihydroxydiphenylmethan-Typus auch die Substanzen des *p*-Hydroxydiphenyläthern- sowie *p,p'*-Dihydroxydibenzyläther-Typus durch (XXVI) eine Färbung geben.<sup>12)</sup> Daran anschliessend stellte er fest, dass die verschiedenen Lignine in ihrem Moleküleende einen Vanillylalkohol- bzw. einen Syringaalkohol-Rest haben. Er erhielt nämlich bei der Einwirkung von (XXVI) auf Lignin im alkalischen Medium 2-Methoxyphenol-indophenol bzw. 2,6-Dimethoxyphenol-indophenol.<sup>13)</sup>

So versuchten wir auch von den durch das Spektrum als positiv reagierend erkannten Substanzen unter (II) zu (XXIV) auf dem im experimentellen Teile ausführlich beschriebenen Weg das Reaktionsprodukt zu isolieren. Wir erhielten nämlich durch die Einwirkung von (I) auf die in Tabelle II angeführten Phenole in alkalischem Medium die Natriumsalze der beiden Indophenolkörper. Da die letzteren und ihre freien Formen

TABELLE II.

| Ausgangssubstanz, Phenol            |                          |               | Leukoindophenol-Verbindung <sup>a)</sup> |                |  |               | Diacetylleukoindophenol-Verbindung <sup>b)</sup> |  |               |  |
|-------------------------------------|--------------------------|---------------|--|----------------|--|---------------|--|--|---------------|--|
| Formel<br>(Gebrauchte<br>Menge) (g) | Schmp.<br>(Sdp.)<br>(°C) | Referenz      | Ausbeute<br>(g)                          | Schmp.<br>(°C) | Analyse (%)  |               | Schmp.<br>(°C)                                   | Analyse (%)  |               |  |
|                                     |                          |               |  |                | Ber.   | Gef.          |  | Ber.   | Gef.          |  |
| (XXV) (0.5)                         | (182)                    | —             | 0.25                                     | 184            | $\left\{ \begin{array}{l} \text{C}_{12}\text{H}_6\text{O}_2\text{NBr}_2 \\ \text{C} \ 40.14 \\ \text{H} \ 2.53 \end{array} \right.$                    | 40.39<br>2.49 | 184~185  | $\left\{ \begin{array}{l} \text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{O}_4\text{NBr}_2 \\ \text{C} \ 43.37 \\ \text{H} \ 2.96 \end{array} \right.$ | 43.57<br>3.20 |  |
| (II) (0.5)                          | 55~56<br>(239~241)       | <sup>b)</sup> | 0.25                                     | 184            | „  | 40.21<br>2.65 | 184~185  | „  | 43.50<br>3.04 |  |
| (III) (1.0)                         | 118~120                  | <sup>a)</sup> | 0.25                                     | 184            | „  | 40.22<br>2.62 | 184~185  | „  | 43.66<br>3.01 |  |
| (IX) (1.0)                          | 118                      | <sup>e)</sup> | 0.30                                     | 184            | „  | —             | 184~185  | „  | 43.77<br>3.19 |  |
| (X) (1.0)                           | 181~182                  | <sup>f)</sup> | 0.12                                     | 183            | „  | —             | 184~185  | „  | 43.09<br>3.14 |  |
| (XI) (1.0)                          | 185~186                  | <sup>g)</sup> | 0.12                                     | 184            | „  | —             | 184~185  | „  | 43.46<br>2.84 |  |
| (XX) (0.5)                          | (217)                    | —             | 0.06                                     | 178            | „  | —             | 184~185  | „  | 43.67<br>3.07 |  |
| (XXI) (0.5)                         | 213~214                  | —             | 0.12                                     | 182            | „  | —             | 184~185  | „  | 43.40<br>3.03 |  |
| (XXVII) (0.5)                       | (187~188)                | —             | 0.30                                     | 102~104        | $\left\{ \begin{array}{l} \text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{ONBr}_2 \cdot \text{H}_2\text{O} \\ \text{C} \ 39.92 \\ \text{H} \ 3.35 \end{array} \right.$ | 40.08<br>3.34 | 160~161  | $\left\{ \begin{array}{l} \text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{O}_4\text{NBr}_2 \\ \text{C} \ 44.66 \\ \text{H} \ 3.31 \end{array} \right.$ | 44.90<br>3.44 |  |
| (IV) (0.5)                          | 97~97.5                  | <sup>h)</sup> | 0.05                                     | 98~100         | „  | —             | 160~161  | „  | 44.63<br>3.34 |  |
| (V) (1.0)                           | 192~193                  | <sup>g)</sup> | 0.30                                     | 102~104        | „  | —             | 160~161  | „  | 44.65<br>3.37 |  |

a) Diese alle sind farblose Nadeln und färben sich an der Luft allmählich nach Blau hin.

b) Diese alle stellen farblose Nadeln dar.

c) H. Bredereck, *et al.*: Ber., **86**, 1085(1953).

d) W. Baker, N. C. Brown: J. Chem. Soc., **1948**, 2303.

e) M. Tiffenau: Bl., [4] **9**, 823(1911).

f) N. H. Cromwell, H. Hoeksema: J. Am. Chem. Soc., **67**, 1659(1945).

g) M. Tiffenau: Bl., [4] **9**, 828(1911).

h) H. Schmid: Monatsh., **32**, 435(1911). Die Orientierung der Substituenten von (IV) wurde durch diesen Versuche zum ersten Mal festgestellt.

\*<sup>3</sup> Die Farbreaktion von Octopamin scheint auf denselben Chemismus wie bei dieser Substanz zurückzuführen zu sein.

12) J. Gierer: Acta Chem. Scand., **8**, 1319(1954).

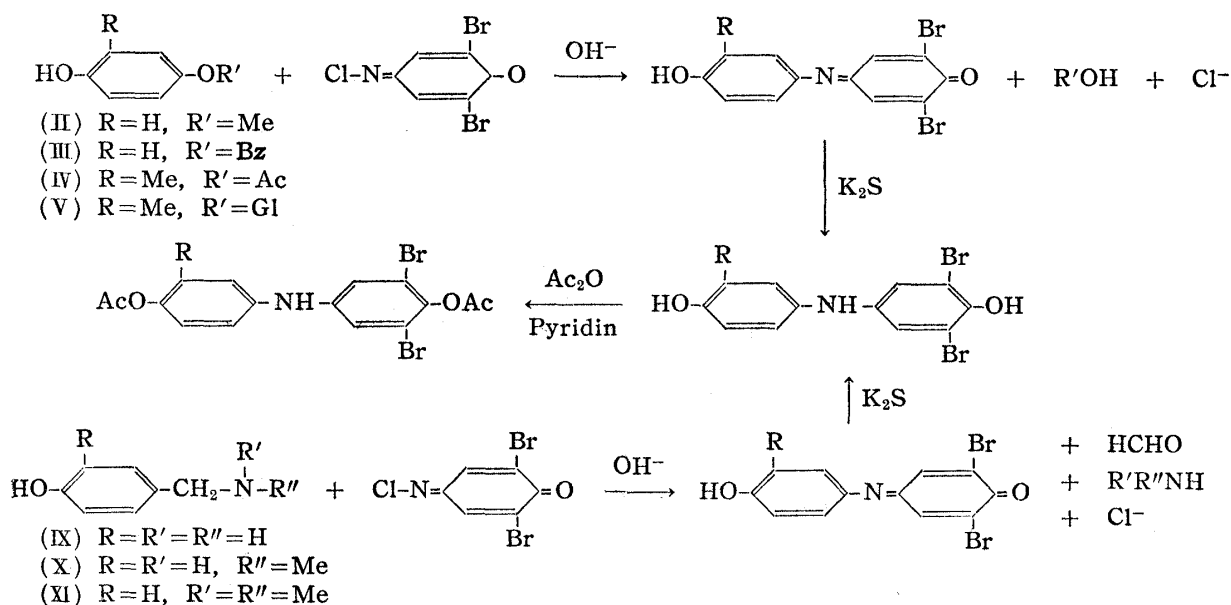
13) J. Gierer: Chem. Ber., **89**, 257(1956).

keinen Schmelzpunkt zeigten und deren Reinigung unter Umständen ziemlich schwer war, stellten wir daraus durch Reduktion mit  $K_3S^{14)}$  die Leukoindophenol-Verbindungen her, die weiter als Acetate gereinigt wurden. Die hier erhaltenen Leukoindophenol-Verbindungen oder deren Acetate stimmen je mit den entsprechenden Substanzen, die aus den durch Einwirkung von (I) auf Phenol (XXV) oder *o*-Kresol (XXVII) erhaltenen Indophenole abgeleitet wurden, in allen Eigenschaften überein.

Somit wurde zum ersten Mal klargestellt, dass es sich bei der Farbreaktion der Substanzen von diesem Typus um die Bildung des Indophenol-Körpers unter Abspaltung des Substituenten in der *para*-Stellung handelt.

Dann verfolgten wir bei *p*-Methoxyphenol (II), *p*-Benzyloxyphenol (III), Homoarbutin (V), Pirolatin (VI), *p*-Hydroxybenzylamin (IX), *N*-Methyl-*p*-hydroxybenzylamin (X) und *N,N*-Dimethyl-*p*-hydroxybenzylamin (XI) durch Untersuchung der von den Indophenol-Verbindungen abgetrennten Mutterlaugen, das Schicksal der abgespalteten Substituenten. Hierbei wurde hauptsächlich auf papierchromatographischem Wege klargestellt, dass der Substituent des *p*-Methoxyphenols (II) bzw. *p*-Benzyloxyphenols (III) als Methanol bzw. Benzylalkohol abgespalten wird. Weiter wurde bei Homoarbutin (V) und Pirolatin\*<sup>4</sup> (VI) auch durch Papierchromatographie und die Darstellung des Phenylglucosazons bestätigt, dass sich *d*-Glucose abspalten lässt. So können wir schliessen, dass die Gruppe OR dieser Substanzen bei der Indophenol-Bildung als ROH abgespalten wird.

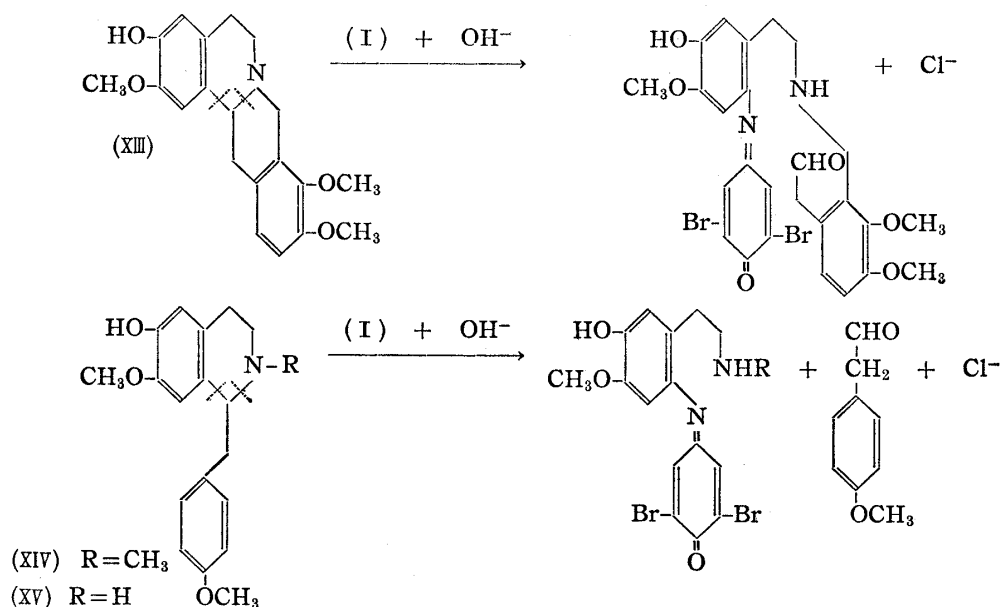
Bei *p*-Hydroxybenzylamin (IX), *N*-Methyl-*p*-hydroxybenzylamin (X) und *N,N*-Dimethyl-*p*-hydroxybenzylamin (XI) wurde auch analoger Weise nachgewiesen, dass die Substanzen alle bei der Indophenol-Bildung Formaldehyd und ausserdem (IX)-Ammoniak, (X)-Methylamin und schliesslich (XI)-Dimethylamin liefern.



Diesen Ergebnissen nach dürfte wohl mit Recht gefolgert werden, dass die positive Reaktion des Tetrahydrojatrorrhizins (XIII), des *N*,4'-Dimethylisococlaurins (XIV) und des 4'-Methylisococlaurins (XV) auch auf eine Indophenol-Bildung nach den folgenden Schemata zurückzuführen sei.

\*<sup>4</sup> Es ist uns noch nicht gelungen, den Pirolagenin-Indophenol-Körper oder dessen Derivate kristallinisch zu isolieren.

14) R. Möhlau: Ber., 16, 2845(1883).



Während die obigen Resultate sowie die Arbeiten von Ziegler und Gierer uns vor der unvorsichtigen Heranziehung der Gibbs'schen Farbreaktion für die Konstitutionsermittlung der Stoffe in dem Sinne, in dem sie bisher benutzt worden war, warnen, deuten sie auf der anderen Seite die Brauchbarkeit der Indophenolbildung unter der Abspaltung des Substituenten als Abbaumethode in einigen besonderen Fällen an.

Zum Schluss sind wir Herrn Prof. M. Tomita und Herrn Prof. T. Suzuki für die Anregung zu dieser Arbeit zu grossem Dank verpflichtet. Herrn M. Yokota danken wir ausserdem für seine Mithilfe bei der Herstellung einiger Ausgangsmaterialien.

#### Experimentell\*<sup>5</sup>

1) **Die Messung der Absorptionsspektren**—1 ccm 0.01M MeOH-Lösung des Substrates, des Phenols, wurde mit 5 ccm 0.005M MeOH-Lösung des 3,5-Dibrombenzochinoniminchlorids (I) und dann unter Umrühren mit Clark-Lubs'scher Pufferlösung von pH 9.4 bis zum gesamten Volum von 20 ccm versetzt. Nach 30 Min. Stehenlassen wurde das Spektrum dieser Lösung mittels Beckman Modell-DU Spektrophotometer gemessen, wobei eine genau in derselben Weise gemischte Lösung von (I) in MeOH-Pufferlösung in die Zelle für Lösungsmittel eingeführt wurde.

2) **Abtrennung und Bestätigung des Indophenol-Körpers**—a) Aus den leicht reagierenden Phenolen; *p*-Methoxyphenol (II), *p*-Benzoyloxyphenol (III), Homoarbutin (V), *p*-Hydroxybenzylamin·HJ (IX), Phenol (XXV), *o*-Kresol (XXVII): Phenol (1.0 g bei (III), (V) sowie (IX), 0.5 g bei den anderen) wurde in 5 ccm 10-proz. NaOH-Lösung gelöst und unter Eiskühlen und Umrühren mit 1.0 g fein gepulvertem Reagenz, das in wenig Wasser suspendiert wurde, nach und nach versetzt. Die Reaktionslösung färbte sich sofort blau. Da bei Phenol (XXV) und seinen Abkömmlingen das Na-Salz des Indophenols verhältnismässig in Wasser schwer löslich ist, werden grüne glänzende Kristalle des Na-Salzes allmählich im Verlauf der Reaktion ausgeschieden. Bei allen Phenolen ausser (III) wurde die Reaktion nach etwa 1 Std. unterbrochen und durch Versetzen mit viel NaCl ausgesalzt. (Da das Na-Salz von (III) in Wasser schwer löslich ist und folglich in einem suspendierten Zustand zur Reaktion gebracht wird, muss man es noch länger—etwa 3 Std. lang—reagieren lassen.) Das so ausgeschiedene Na-Salz des Indophenol-Körpers wurde abgesaugt, mit 10-proz. NaCl-Lösung und dann mit Et<sub>2</sub>O gewaschen. Das rohe Na-Salz aus dem Phenol (XXV) und seinen Derivaten lieferte durch Umkristallisieren aus Methanol prächtige blaugrüne Kristalle.

Das aus dem *o*-Kresol (XXVIII) und seinen Derivaten erhaltene ergab durch Lösen in MeOH und darauf folgender Versetzung mit Et<sub>2</sub>O pulverartiges Na-Salz. Das rohe Na-Salz wurde aber im

\*<sup>5</sup> Kein Schmelzpunkt wurde korrigiert. Die Mikroanalyse wurden im Mikroanalytischen Zentrum der Universität Kyoto durchgeführt, wofür wir Herrn Dr. K. Hozumi und seinen Mitarbeiterinnen zu grossem Dank verpflichtet sind.

Das Reagenz 3,5-Dibrombenzochinoniminchlorid wurde nach der Beschreibung von Org. Syntheses, Coll. Vol. II, 175(1948), hergestellt; es stellt gelbe Nadeln vom Schmp. 83~84° dar.

allgemeinen ohne weiteres zur Leuko-Verbindung reduziert. Die wässrige Lösung des rohen Na-Salzes wurde nämlich bis zum Verschwinden der blauen Farbe des Indophenols mit der wässriger  $K_2S$ -Lösung versetzt und sofort nach dem Filtrieren in wenig verd. AcOH eingetroppt. (Während das Na-Salz des Leukoindophenol-Körpers stark oxydierbar ist, erweist sich die freie Form ziemlich stabil.) Die ausgeschiedene Substanz wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und in wenig MeOH gelöst. Zur MeOH-Lösung wurde das mit  $SO_2$  gesättigte Wasser hinzugefügt, wobei sich kristalliner Leukoindophenol-Körper ausschied. Nach dem Trocknen wurde er mit Pyridin- $Ac_2O$  acetyliert und in üblicher Weise behandelt. Das dabei erhaltene Reaktionsprodukt lieferte durch Umlösen aus EtOH das Diacetat des Leukoindophenol-Körpers.

b) Aus den schwer reagierenden Phenolen: 2-Hydroxy-5-acetoxytoluol (IV), N-Methyl-*p*-hydroxybenzylamin (X), N,N-Dimethyl-*p*-hydroxybenzylamin (XI), *p*-Chlorphenol (XX), *p*-Hydroxybenzoesäure (XXI): Diese Phenole reagieren in der NaOH-Lösung so träge, dass die Zersetzung des Reagenzes (I) an sich der Indophenolbildung vorgeht. Bei (IV) ist es auch denkbar, dass sie an sich eine Hydrolyse erleiden. Da folglich die Ausbeute an Indophenol-Körper aus diesen Phenolen unter denselben Bedingungen wie bei a) sehr schlecht war, wurde die Reaktion bei ihnen folgenderweise durchgeführt. 0.5 g Phenol (1 g bei (X) und (XI)) wurde in 5–10 ccm MeOH gelöst und mit 10 ccm Clark-Lubs'scher Puffer-Lösung von pH 9.0 versetzt. Dann wurden allmählich unter Eiskühlung und Umrühren einer Suspension von (I) in wenig Wasser sowie 6 ccm *N* NaOH vorsichtig hinzugefügt. (Durch Zersetzung des Reagenz färbt sich die Reaktionslösung zuweilen schmutzig grün.) Nach etwa 3 Std. wurde die Reaktion unterbrochen, die ausgeschiedenen Kristalle wurden abgesaugt, mit 1-proz. NaCl-Lösung und dann mit  $Et_2O$  gewaschen. Das Filtrat beim Absaugen der Kristalle wurde nach Einengen im Vakuum ausgesalzt. Das hierbei erhaltene Na-Salz des Indophenol-Körpers wurde mit dem vorher erhaltenen zusammen ganz analog wie bei a) behandelt.

3) **Untersuchung der abgespalteten Substituenten**—a) Nachweis des MeOH aus dem Reaktionsprodukte von *p*-Methoxyphenol (II): 1.0 g (I) wurde ebenso wie bei (2-a) mit 0.5 g (II) behandelt, mit HCl angesäuert und abfiltriert; das Filtrat wurde dann der Wasserdampfdestillation unterworfen. Ein Teil des ersten Destillats wurde mit der Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin in verd.  $H_2SO_4$  versetzt, wobei kein Aldehyd nachgewiesen wurde. Der Rest des Destillats wurde mit  $K_2CO_3$  gesättigt und mit  $Et_2O$  geschüttelt; die Ätherschicht wurde mit 0.5 ccm  $CS_2$  sowie 0.1 g KOH geschüttelt. Sie färbte sich dabei allmählich gelb und schied eine kleine Menge Nadelchen aus. Die letzteren wurde durch Papierchromatographie als Kalium Methylxanthogenat nachgewiesen. Rf 0.13. Lösungsmittel, mit 2-proz. KOH gesättigtes BuOH (1:1). Papier, Toyo Roshi Nr. 50; Temp., 22°; Laufzeit, 14 Std.: Nachweisreagenz, Ammoniummolybdänat und  $2NH_2SO_4$ .

b) Nachweis des Benzylalkohols aus den Reaktionsprodukten von *p*-Benzyloxyphenol (III): 1.0 g (I) liess man analogerweise wie bei a) auf 1.0 g (III) einwirken. Dann wurde mit  $Et_2O$  ausgezogen. Nach dem Abdestillieren des  $Et_2O$  wurde der Rückstand mit HCl angesäuert und mit etwa 5 ccm Wasser ausgezogen. Der Wasserauszug wurde wiederum ausgeäthert und das Lösungsmittel abdestilliert, wobei ein nach Benzylalkohol riechendes Öl zurückblieb. Während dieses durch 2,4-Dinitrophenylhydrazin keine Hydrazon-Verbindung gab, lieferte es mit der Behandlung wie bei a) das Kalium Benzylxanthogenat vom Zp. 160°. Der Zersetzungspunkt und der Rf-Wert von diesem stimmen mit denjenigen der authentischen Substanz genau überein. Rf 0.28. Die Behandlungen bei Papierchromatographie genau so wie bei a).

c) Nachweis der Glucose aus der Reaktionsprodukten von Homoarbutin (V): Nach dem Einwirkenlassen von 1.0 g (V) auf 1.0 g (I) wurde die Reaktionslösung mit AcOH angesäuert, abfiltriert und das Filtrat zweimal ausgeäthert. Die farblose durchsichtige Flüssigkeit, die sich bei der Behandlung der Wasserschicht mit aktiver Kohle erhalten liess, wurde mit  $NaHCO_3$  neutralisiert und zur Trockne eingedampft. Ein Teil des dabei gewonnenen Rückstands (A) wurde durch Papierchromatographie untersucht. Zur Kontrolle wurde dabei auch die Papierchromatographie von *d*-Glucose und *d*-Mannose durchgeführt und die Identität der Probe mit der *d*-Glucose nachgewiesen. Rf 0.18. Lösungsmittel, BuOH: AcOH:  $H_2O$  (4:1:5). Papier, Toyo Roshi Nr. 50; Temp., 22°; Laufzeit, 14 Std; Nachweisreagenz, Saures oxalsaures *o*-Aminodiphenyl.

So erhielten wir durch die Einwirkung des Phenylhydrazins auf den Rückstand (A) in üblicher Weise 0.35 g gelbe Kristalle des Phenylglucosazon vom Schmp. 208°, die durch Mischprobe mit der authentischen Substanz keine Depression zeigten.  $C_{18}H_{22}O_4N_4$ —Ber.: C, 60.32; H, 6.19. Gef.: C, 60.22; H, 6.17.

d) Nachweis der Glucose aus den Reaktionsprodukten von Pirolatin (VI): Die Behandlung wie bei c) führte zum gleichen Resultate. Phenylglucosazon:  $C_{18}H_{22}O_4N_4$ —Ber.: C, 60.32; H, 6.19. Gef.: C, 60.07; H, 6.36.

e) Nachweis von Ammoniak und Formaldehyd aus den Reaktionsprodukten des *p*-Hydroxybenzylamin·HJ (IX): Nach dem Einwirkenlassen von 1.0 g (I) auf 1.0 g (IX) wurde die Reaktionslösung ausgesalzt, abfiltriert und ein Teil des Filtrats der Wasserdampfdestillation unterworfen. Aus dem Destillat wurde durch Nessler'sches Reagenz  $NH_3$  nachgewiesen. Der andere Teil des Filtrats wurde mit  $H_2SO_4$  angesäuert und der Wasserdampfdestillation unterworfen. Das Destillat wurde

mit einer Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin in verd.  $H_2SO_4$  versetzt. Der gelbe Niederschlag dabei lieferte durch Umlösen aus EtOH gelbe Nadeln vom Schmp.  $164\sim 165^\circ$ , die durch Mischprobe mit der authentischen Substanz als Formaldehyd identifiziert wurden.  $C_7H_6O_4N_4$ —Ber.: C, 40.01; H, 2.88. Gef.: C, 40.28; H, 3.10.

f) Nachweis von Methylamin und Formaldehyd aus den Reaktionsprodukten des N-Methyl-*p*-hydroxybenzylamin·HCl (X): Nachdem Einwirkenlassen von 0.6 g (I) auf 0.3 g (X) wurde die Reaktionslösung mit HCl angesäuert, abfiltriert und das Filtrat der Wasserdampfdestillation unterworfen. Aus dem Destillat wurde analoger Weise wie bei e) Formaldehyd nachgewiesen. Formaldehyd-2,4-dinitrophenylhydrazon:  $C_7H_6O_4N_4$ —Ber.: C, 40.01; H, 2.88. Gef C, 39.76; H, 2.84.

Die bei der Wasserdampfdestillation zurückgebliebene Lösung wurde mit NaOH alkalisch gemacht und wiederum mit Wasserdampf überdestilliert, wobei das Destillat in die verd. HCl eingeleitet wurde. Eine Probe der HCl-Lösung gab mit Nessler'schem Reagenz sowie Ninhydrin Reagenz eine positive Reaktion.

Durch Papierchromatographie des Rückstands beim Eindampfen dieser Lösung wurde die Existenz des Methylamins festgestellt. Rf 0.24; Lösungsmittel BuOH:AcOH:H<sub>2</sub>O (4:1:5). Papier, Toyo Roshi Nr. 50; Temp.,  $22^\circ$ ; Laufzeit, 14 Std.; Nachweisreagenz, Ninhydrin.

g) Nachweis von Dimethylamin und Formaldehyd aus den Reaktionsprodukten des N,N-Dimethyl-*p*-hydroxybenzylamin·HCl (XI)—Durch Behandlung wie bei f) wurde die Existenz von Dimethylamin und Formaldehyd festgestellt. Formaldehyd-2,4-dinitrophenylhydrazon:  $C_7H_6O_4N_4$ —Ber.: C, 40.01; H, 2.88. Gef.: C, 40.16; H, 3.05.

Dimethylamin: Rf 0.28. Die Bedingungen der Papierchromatographie waren genau so wie bei f).

Bei dieser Substanz (XI) erhielten wir weiter durch die Einwirkung des Phenylisothiocyanats auf das entstandene Dimethylamin in üblicher Weise Kristalle des Phenyl dimethylthioharnstoffs vom Schmp.  $132\sim 132.5^\circ$ , die durch die Mischprobe mit der authentischen Substanz keine Depression zeigten.  $C_9H_{12}N_2S$ —Ber.: C, 59.96; H, 6.71. Gef.: C, 59.74; H, 6.94.

### Zusammenfassung

1) Es wurde erwiesen, dass verschiedene *p*-Hydroxyphenyläther durch die Einwirkung des Gibbs'schen Reagenz (I), unter der Abspaltung der *para*-ständigen RO-Gruppe als ROH, Indophenol-Körper bilden. So wurde der Chemismus der Farbreaktion von Homarbutin (V) und Pirolatin (VI) durch dieses Reagenz klargestellt.

2) Es wurde erwiesen, dass *p*-Hydroxybenzylamin (IX) und dessen sekundäres (X) sowie tertiäres Amin (XI) bei der Einwirkung des Reagenz (I), unter der Abspaltung der  $-CH_2NRR'$  Gruppe als Amin (Ammoniak bei (IX)) und Formaldehyd, Indophenol-Körper bilden. Auf Grund dieser Tatsachen wurde der Chemismus der durch dieses Reagenz bewirkten Farbreaktion von Tetrahydrojatrorrhizin (XIII), N,4'-Dimethylisococclaurin (XIV) und 4'-Methylisococclaurin (XV) erörtert.

3) Es wurde weiter erwiesen, dass *p*-Chlorphenol und *p*-Hydroxybenzoesäure auch in gleicher Weise Indophenol-Körper liefern.

(Eingegangen am 15. Dezember, 1957)