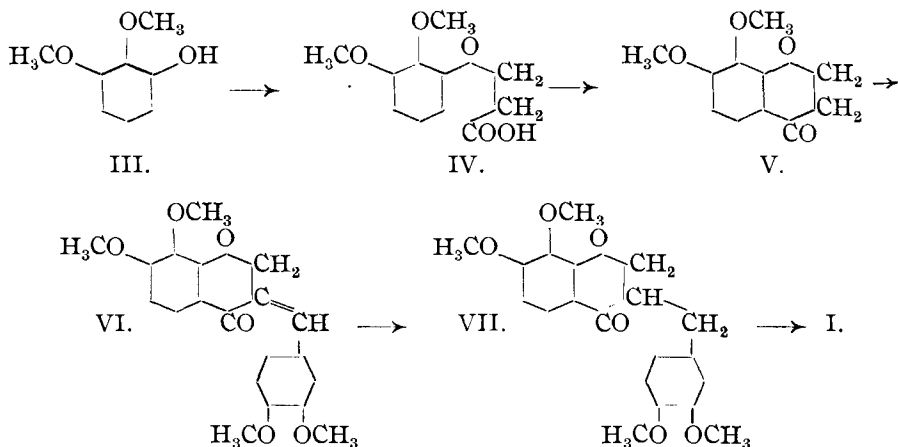


47. P. Pfeiffer, E. Haack und J. Willems:
Synthese des Tetramethyl-anhydrohämatoxylyns.
(VI. Mitteilung zur Brasilin- und Hämatoxylin-Frage.)

(Eingegangen am 24. Dezember 1927.)

Nachdem von P. Pfeiffer und H. Oberlin¹⁾ der Trimethyläther des Anhydro-brasilins synthetisiert worden war, bot die Darstellung des Tetramethyläthers des Anhydro-hämatoxylyns (I), welches in recht naher, konstitutioneller Beziehung zum Hämatoxylin (II), dem färbenden Prinzip des Blauholzes, steht, keine prinzipiellen Schwierigkeiten.

Man geht vom Pyrogallol-1.2-dimethyläther (III) aus, kondensiert den Äther mit β -Chlor-propionsäure zur β -[2.3-Dimethoxy-phenoxy]-propionsäure (IV) und behandelt das Kondensationsprodukt mit Phosphorpentoxyd. Es entsteht so das 7.8-Dimethoxy-chromanon (V)²⁾, welches mit Vanillin-methyläther in saurer oder alkalischer Lösung das 3-[3'.4'-Dimethoxy-benzal]-7.8-dimethoxy-chromanon (VI) gibt. Dieses Keton, welches hellgelbe Nadeln vom Schmp. 137—137.5⁰ bildet und sich in konz. Schwefelsäure mit roter Farbe löst, läßt sich durch Wasserstoff bei Gegenwart von fein verteiltem Platin zum 3-[3'.4'-Dimethoxy-benzyl]-7.8-dimethoxy-chromanon (VII) reduzieren, welches über das Oxim erhalten werden kann. Erwärmt man nun den Benzyl-chromanon-Körper in Benzol-Lösung mit Phosphorpentoxyd, so tritt erneut Ringschluß ein, und es bildet sich das gesuchte Tetramethyl-anhydrohämatoxylin (I). Wir haben also die Reaktionsfolge:

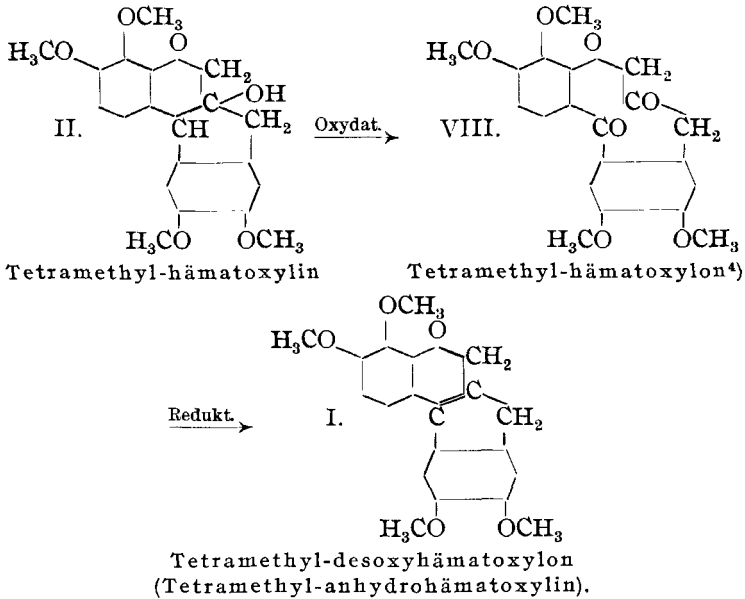


Der Tetramethyläther des Anhydro-hämatoxylyns krystallisiert in einheitlichen, weißen, verfilzten Nadelchen, deren Schmp. bzw. Zers.-Pkt. sehr von der Art des Erhitzens abhängt. Bringt man die Verbindung in vorgewärmt Schwefelsäure, so bildet sich zwischen 170—173⁰ eine dunkelbraune Schmelze; vorher aber tritt starkes Sintern ein.

¹⁾ B. 60, 2142 [1927].

²⁾ P. Pfeiffer, H. Oberlin und E. Konermann, B. 58, 1957 [1925].

Dieses synthetische Produkt ist nun völlig identisch mit einer Verbindung, die seinerzeit von Herzig und Pollak³⁾ aus dem Tetramethyl-hämatoxylin (II) über sein Oxydationsprodukt, das Tetramethyl-hämatoxylon (VIII), durch Reduktion mit Phenyl-hydrazin erhalten worden ist. Die Konstitution dieser als Tetramethyl-desoxyhämatoxylon bezeichneten Verbindung war bisher noch unbekannt; sie ist nunmehr aufgeklärt, es gelten die folgenden einfachen Beziehungen:



Die Identität des synthetischen Tetramethyl-anhydrohämatoxylin mit dem durch Abwandlung des Hämatoxylin erhaltenen Tetramethyl-desoxyhämatoxylon ergibt sich, abgesehen von der gleichen empirischen Zusammensetzung der Verbindungen, daraus, daß beide Verbindungen den gleichen Schmelzpunkt zeigen und im Gemisch keine Schmelzpunkts-Depression geben. Auch sind die Farbenreaktionen beider Verbindungen völlig identisch. Mit Bromdampf färben sich beide intensiv tief violettrot (die Farbe geht allmählich in orange über), mit konz. Schwefelsäure geben beide intensiv zinnberrote Lösungen, mit konz. Salpetersäure fast undurchsichtige, blutrote Lösungen (Ablaufarbe purpurrot), deren Farbe beim Erwärmen orangegelb wird.

Die Untersuchung wird fortgesetzt.

³⁾ B. 38, 2166 [1905].

⁴⁾ Zu dieser Formel des Tetramethyl-hämatoxylons siehe die Betrachtungen von P. Pfeiffer und H. Oberlin (B. 60, 2145 [1927]) über die Konstitution des Trimethyl-brasilons.

⁵⁾ Der Vergleich der beiden Produkte wurde uns dadurch ermöglicht, daß uns die Basler Chemische Fabrik, Geigy & Co., Akt.-Ges., in liebenswürdiger Weise reines Hämatoxylin zur Verfügung stellte; für das große Entgegenkommen sei auch an dieser Stelle bestens gedankt. Aus diesem Hämatoxylin konnte leicht durch Methylieren, Oxydation und nachfolgende Reduktion Tetramethyl-desoxyhämatoxylon erhalten werden.

Beschreibung der Versuche.

1. 7.8-Dimethoxy-chromanon (V).

Zur Darstellung dieser Verbindung geht man vom Pyrogallol aus, welches über Pyrogallol-carbonsäure und Dimethyl-pyrogallol-carbonsäure in Pyrogallol-1.2-dimethyläther übergeführt wird⁶⁾. Hierbei wurden aus 3 kg Pyrogallol etwa 1.3 kg Pyrogallol-carbonsäure und aus 900 g dieser Säure 450 g Dimethyl-pyrogallol erhalten.

Dimethyl-pyrogallol wird dann mit β -Chlor-propionsäure zur β -[2.3-Dimethoxy-phenoxy]-propionsäure kondensiert und diese Säure mit Phosphorperoxyd in das 7.8-Dimethoxy-chromanon verwandelt⁷⁾. Da wir diese Reaktionen mit relativ großen Substanzmengen durchgeführt haben, so seien sie hier kurz geschildert.

Man löst unter Zusatz von etwas Natriumhyposulfit 200 g Dimethyl-pyrogallol in 150 g KOH + 350 g Wasser und gibt zu der heißen Flüssigkeit (bei der Herstellung der Lösung tritt starke Wärme-Entwicklung auf) in einem Guß, unter starkem Schütteln, eine Lösung von 140 g β -Chlor-propionsäure in 60 ccm Wasser. Dann erwärmt man die jetzt fast siedende Flüssigkeit unter öfterem Umschütteln so lange auf dem Wasserbade, bis sie gegen Lackmus neutral bzw. schwach sauer reagiert. Kühlt man dann ab und gibt das gleiche Volumen Wasser hinzu, so scheidet sich der größte Teil des unverbrauchten Dimethyl-pyrogallols aus; das Öl wird im Scheidetrichter abgetrennt und erneut der Reaktion unterworfen, wobei die jeweilig abfiltrierte, unverbrauchte Dimethyl-pyrogallol-Menge stets von neuem zur Reaktion gebracht wird. Die wäßrigen Lösungen, die man so erhält, werden vereinigt, 2-mal mit viel Äther ausgeschüttelt und dann mit konz. Salzsäure stark angesäuert. Nach 1-tägigem Stehen kann man das Reaktionsprodukt abfiltrieren. Die ätherischen Auszüge lassen sich auf unverändertes Dimethyl-pyrogallol verarbeiten, welches wieder in die Reaktion eingeführt wird.

Im ganzen wurden so aus 450 g Dimethyl-pyrogallol und 2500 g β -Chlor-propionsäure 430 g rohe β -[2.3-Dimethoxy-phenoxy]-propionsäure erhalten. Zur Reinigung genügt es, das Rohprodukt mit wenig Alkohol zu einem steifen Brei zu verreiben, diesen mit Eis abzukühlen, dann abzusaugen und mit kleinen Portionen gut gekühlten Alkohols auszuwaschen. Es hinterbleibt so die reine Verbindung als schneeweiße, kristallinische Masse; Ausbeute 250 g. Aus der alkoholischen Mutterlauge können noch weitere 35 g reines Produkt gewonnen werden. Schmp. 101⁰.

Zur Umwandlung in das 7.8-Dimethoxy-chromanon löst man auf dem Wasserbade 285 g Kondensationsäure in etwa 1200 ccm Benzol, trägt in die Lösung unter Umschütteln 300 g Phosphorperoxyd ein und kocht 2 Stdn. am Rückflußkühler. Dann werden nochmals 100 g Phosphorperoxyd zugegeben; nachdem man weitere 3 Stdn. erwärmt hat (die Benzol-Lösung hat sich tief gelb gefärbt, das Phosphorperoxyd braunschwarz), läßt man erkalten, gießt die Benzol-Schicht ab, wäscht sie mit etwas konz. Natronlauge und dampft ein. Es bleibt nahezu reines Dimethoxy-chromanon zurück. Den Phosphorperoxyd-Rückstand versetzt man unter guter Kühlung mit Eis, bis alles in Lösung gegangen ist; die Lösung schüttelt man mit Äther + Benzol aus, wäscht die Äther-Benzol-Schicht mit Kalilauge und dampft wieder ab. Die vereinigten Reaktionsprodukte geben bei der Destillation im Vakuum bei 17 mm Druck und einer Temperatur von 196⁰ reines Dimethoxy-chromanon vom Schmp. 98—100⁰. Ausbeute 190 g.

⁶⁾ Herzig und Pollak, B. 36, 661 [1903].

⁷⁾ P. Pfeiffer und E. Konermann, B. 58, 1957 [1925].

2. 3-[3'.4'-Dimethoxy-benzal]-7.8-dimethoxy-chromanon (VI).

Man löst in der Kälte in einem mit einem Einleitungsrohr versehenen, sonst aber dicht verschlossenen Kolben 50 g 7.8-Dimethoxy-chromanon und 40 g Veratrumaldehyd in 300 ccm Eisessig, stellt in fließendes Wasser, leitet Chlorwasserstoff ein und läßt 24 Stdn. unter HCl-Druck stehen. Die Lösung färbt sich beim Einleiten des Chlorwasserstoffs intensiv rot. Allmählich erstarrt der Inhalt des Kolbens zu einem dicken Krystallbrei, der gut durchgeschüttelt wird. Nach Ablauf der 24 Stdn. werden unter Rühren 1000—1200 ccm Wasser zugegeben, worauf sich die ursprünglich ausgefallenen Krystalle wieder lösen. Dann krystallisieren rasch feine, rötlich-braune Nadelchen aus, die nach einigem Stehen abfiltriert werden. Nach 2-maliger Krystallisation aus Alkohol bildet die Verbindung kanariengelbe Blättchen vom Schmp. 136—137°. Wird das Produkt noch 4-mal aus Alkohol (das erstemal unter Zusatz von Tierkohle) umkrystallisiert, so erhält man hell kanariengelbe Nadeln vom Schmp. 137—137.5°. Konz. Schwefelsäure gibt intensiv rote Halochromie mit purpurrotem Ablauf; in Alkohol und in Ligroin heiß ziemlich gut, kalt wenig löslich; etwas besser löslich in Eisessig; gut löslich in Benzol, sehr leicht löslich in Chloroform. Ausbeute an 2-mal umkrystallisiertem Produkt 65 g.

Die Verbindung läßt sich auch durch Kondensation der Komponenten in wäßrig-alkoholisch-alkalischer Lösung erhalten, doch sind dann die Ausbeuten weit geringer⁸⁾.

4.245 mg Sbst.: 10.515 mg CO₂, 2.218 mg H₂O.

C₂₀H₂₀O₈. Ber. C 67.39, H 5.66. Gef. C 67.54, H 5.84.

3. 3-[3'.4'-Dimethoxy-benzyl]-7.8-dimethoxy-chromanon (VII).

Diese Verbindung entsteht durch Reduktion des zugehörigen Chalkons mit Wasserstoff bei Gegenwart von fein verteiltem Platin. Man füllt 40 g des Chalkons, 6 g Platinmohr und 550 g Eisessig in den Hydrierungskolben, schließt an den Wasserstoff-Gasometer an und schüttelt dauernd gut durch. Um das Platin wirksam zu erhalten, wird ab und zu etwas Sauerstoff in den Hydrierungskolben eingeleitet. Nachdem 3200 ccm Wasserstoff und 100 ccm Sauerstoff verbraucht sind, wird der Versuch abgebrochen. Die vom Chalkon aufgenommene Menge Wasserstoff beträgt dann 3000 ccm, während sich theoretisch 2700 ccm berechnen (bei gewöhnlicher Temperatur und gewöhnlichem Druck). Dann wird vom Platin abfiltriert und etwa $\frac{3}{4}$ des Eisessigs abdestilliert, wobei sich die ursprünglich gelbe Flüssigkeit rotbraun färbt. Man gibt nun zur heißen Lösung so lange Wasser, bis die Krystallisation einsetzt und läßt ruhig stehen. Es scheiden sich dann allmählich gelbe, körnige Krystalle aus, die aus einem Hydrat der gesuchten Verbindung bestehen. Um die wasser-freie Verbindung zu erhalten, wird das noch feuchte, abgesaugte Produkt mit Benzol übergossen und dann das Benzol bis auf einen Rest von etwa 80 ccm abdestilliert. Nun wird frisches Benzol zugegeben, wieder destilliert und dieser Prozeß so lange wiederholt, bis das abdestillierte Benzol klar, also wasser-frei ist. Gibt man nun zur benzolischen Restlösung (etwa 100—150 ccm) in der Wärme so viel Ligroin, daß die Flüssigkeit noch eben klar bleibt, so setzt sich über Nacht das wasser-freie Hydrie-

⁸⁾ siehe hierzu P. Pfeiffer und H. J. Emmer, B. 53, 951 [1920]; dort ist der Schmp. der Verbindung, die nur in ganz geringen Mengen erhalten worden war und daher nicht analysiert werden konnte, zu 133—134° angegeben.

rungsprodukt in reichlicher Menge in krystallinischer Form ab. Aus der Mutterlauge kann man weitere Mengen des Hydro-chalkons gewinnen. Die Gesamtausbeute betrug 30 g = 74% d. Th. Beim Umkrystallisieren aus Ligroin erhält man ganz schwach gelbliche Nadeln, die bei 90—91° schmelzen (Schmp. des oben erwähnten Hydrats 115°). Die Verbindung ist sehr leicht löslich in Benzol, leicht löslich in Eisessig, schwer löslich in Ligroin. Mit konz. Schwefelsäure entsteht eine orangerote Lösung mit hellgelbem Ablauf.

Die relativ starke Halochromie zeigt, daß das so erhaltene Hydrierungsprodukt noch geringe Mengen Ausgangsmaterial enthält, die sich beim Umkrystallisieren nicht entfernen lassen. Ganz reines Hydro-chalkon läßt sich über das Oxim (siehe weiter unten) darstellen. Eine Lösung von 1 g Oxim in 15 ccm Eisessig wird mit 25 ccm 10-proz. Schwefelsäure versetzt und dann 1/2 Stde. zum Sieden erhitzt. Dann wird zu der gelb gewordenen Flüssigkeit in der Wärme unter Schütteln so lange Wasser gegeben, bis die Krystallisation einsetzt. Nach mehrstündigem Stehen hat sich das Hydrat des Ketons ausgeschieden, welches nach den obigen Angaben vom Wasser befreit und dann noch 2-mal aus Ligroin umkrystallisiert wird (das erstmalig unter Zusatz von etwas Tierkohle). Völlig farblose Nadeln vom Schmp. 90—90.5°, die sich in konz. Schwefelsäure mit rein gelber Farbe und gelbem Ablauf lösen.

4.404 mg Sbst.: 10.835 mg CO₂, 2.425 mg H₂O.

C₂₀H₂₂O₆. Ber. C 67.01, H 6.19. Gef. C 67.10, H 6.16.

Oxim: Dargestellt durch 2—3-stdg. Kochen einer Lösung von 2 g Keton, 5 g Hydroxylamin-Hydrochlorid und 5 g wasser-freiem Natriumacetat in etwa 80 ccm Alkohol. 2-mal aus verd. Alkohol umkrystallisiert: Silberglänzende, farblose Blättchen vom Schmp. 167°. Unlöslich in kalter und heißer Natronlauge, leicht löslich in Benzol; in konz. Schwefelsäure farblos löslich.

4. Tetramethyl-anhydrohämatoxylin (II).

Wird die Benzol-Lösung des über das Oxim gereinigten „Hydro-ketons“ mit Phosphorperoxyd versetzt, so bleibt sie zunächst farblos und wird dann beim Erwärmen zinnoberrot. Das nur durch Umkrystallisieren gereinigte „Hydro-keton“ gibt bei derselben Behandlung nacheinander eine tief blaue, violette und schließlich violett-braune Färbung.

Zur Synthese des Tetramethyl-anhydrohämatoxylin wurde das nur durch Umkrystallisieren gereinigte „Hydro-keton“ verwandt. Man versetzt die Lösung von 10 g des „Hydro-ketons“ in 200 ccm trockenem Benzol unter gutem Schütteln in einem Rundkolben mit etwa 80 g Phosphorperoxyd, kocht das Gemisch 10 Min. am Rückflußkühler, fügt wieder 80 g Phosphorperoxyd hinzu und wiederholt den Zusatz von 80 g P₂O₅ noch 2-mal. Nach 1-stdg. Versuchsdauer läßt man erkalten, filtriert das Phosphorperoxyd, welches den größten Teil des Kondensationsproduktes gebunden enthält, ab, wäscht es mit Petroläther und bringt es in ganz kleinen Portionen auf Eis. Dann macht man mit wäßrigem Ammoniak schwach alkalisch, saugt den Niederschlag ab, wäscht ihn einigemal auf der Nutsche mit Alkohol und krystallisiert ihn 4-mal aus Benzol um. Ausbeute etwa 5 g.

Das reine Tetramethyl-anhydrohämatoxylin bildet einheitliche, rein weiße, etwas verfilzte Nadelchen. Sie haben keinen scharfen Schmelzpunkt, der noch dazu stark von der Art des Erhitzens abhängt. Beim Erwärmen bräunt sich die Substanz zunächst und schmilzt schließlich unter völliger Schwarzfärbung zusammen. Trägt man die Substanz in ein etwa 150°

heißes Schwefelsäure-Bad ein und erwärmt dann mit normaler Geschwindigkeit, so schmilzt sie unter Zersetzung bei 170—173⁰.

Herzig und Pollak⁹⁾ geben für ihr aus Tetramethyl-hämatoxylin über Tetramethyl-hmatoxylylon gewonnenes Produkt, das sogen. „Tetramethyl-desoxyhmatoxylylon“, den Schmp. zu 170—175⁰ an. Der Schmelzpunkt des von uns nach der Vorschrift von Herzig und Pollak erhaltenen Tetramethyl-desoxyhmatoxylylons lag bei 169—172⁰. Der Misch-Schmp. unseres synthetischen Produktes und des nach Herzig und Pollak erhaltenen Abbauproduktes betrug 168—170⁰; eine Depression war also nicht vorhanden. Die völlige Identität beider Verbindungen ergab sich vor allem aus den Farbreaktionen. In beiden Fllen tritt beim Anblasen mit Chlor oder Brom tief purpurrote Färbung auf, die nach einiger Zeit verschwindet und einer orangen Färbung Platz macht. Konz. Salpetersäure löst beide Verbindungen mit tief blutroter Farbe und purpurrotem Ablauf; erwärmt man die Lösungen, so färben sie sich orangegeflbt mit gelbem Ablauf. Konz. Schwefelsäure gibt in beiden Fllen intensiv zinnoberrote Halochromie mit rotem Ablauf.

4.612 mg Sbst.: 11.954 mg CO₂, 2.504 mg H₂O. — 5.577 mg Sbst.: 14.406 mg CO₂, 2.959 mg H₂O.

C₂₀H₂₀O₅. Ber. C 70.56, H 5.93. Gef. C 70.69, 70.45, H 6.08, 5.94.

Bonn. Chem. Institut d. Universität, im Dezember 1927.

48. Ernst Waldschmidt-Leitz, Anton Schffner, Hans Schlatter und Willibald Klein:

Zur Spezifität von Pankreas-Trypsin und Darm-Erepsin. (Zwölfte Mitteilung zur Spezifität tierischer Proteasen.)

[Aus d. Chem. Laborat. d. Bayer. Akademie d. Wissenschaften in München.]

(Eingegangen am 28. Dezember 1927.)

Für die Untersuchungen über die Spezifität der proteolytischen Enzyme, die im Rahmen der Eiweiß-Forschung ihre Nutzenanwendung finden, sind nach den letzten Erfahrungen neue Gesichtspunkte wegleitend geworden. Die Auffindung eines Peptids, des Leucyl-triglycyltyrosins, als spezifisches Substrat für Pankreas-Trypsin, die beschrieben wurde¹⁾, schien uns für die Kenntnis der spezifischen Wirkungsweise tryptischer und ereptischer Enzyme, wie für die Beurteilung der Eiweiß-Struktur von besonderer Bedeutung; denn die Erfahrungen, daß der Abbau natürlicher Proteine auch durch Trypsin in der Auflösung von Peptid-Bindungen besteht, und daß die Anteile der einzelnen Proteasen an der Gesamthydrolyse der Proteine einfache Bruchteile der lösbaren Peptid-Bindungen darstellen²⁾, veranschaulichte sie zuerst an synthetischem Material.

⁹⁾ B. 38, 2166 [1905].

¹⁾ E. Waldschmidt-Leitz, W. Grassmann und H. Schlatter, B. 60, 1906 [1927].

²⁾ vergl. E. Waldschmidt-Leitz, A. Schffner und W. Grassmann, Ztschr. physiol. Chem. 156, 68, u. zw. S. 78 [1926]; E. Waldschmidt-Leitz und E. Simons, ebenda 156, 114 [1926]; E. Waldschmidt-Leitz und G. Künstner, ebenda 171, 70, 290 [1927].